République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche scientifique

Université de Médéa

Faculté des Sciences

Polycopié de cours de Microbiologie

Selon le programme pédagogique officiel de la licence-L2- (Sciences Biologiques, Sciences Agronomiques et Sciences Ecologiques)

Dr. KAABOUB Elaid

Maître de conférences classe B

Département SNV

Année universitaire 2022-2023

Chapitre 01: Le monde bactérien (historique, classification et nomenclature)

Objectifs :

- **D’avoir une idée sur l’historique des micro-organismes**
- **Les différents critères de classification bactérienne**
- **Comment donner un nom scientifique pour une espèce bactérienne**

Introduction :

Les bactéries sont les premières formes de vie; elles ont une capacité d'adaptation énorme et l'on en trouve plusieurs millions d'espèces sur terre (seuls quelques milliers d'entre elles donnent des maladies). La majorité d'entre elles vivent en milieu aquatique ou terrestre, où elles assurent principalement la décomposition des substances organiques mortes. La plupart des bactéries sont sans danger, et beaucoup sont bénéfiques, voire indispensables (« flore » microbienne).

I-Historique :

I-1- La Découvert des micro-organismes

La découverte des micro-organismes nécessitait la fabrication d'un (outil). C'est le Hollandais **Antony Van Leeuwenhoek** (1632-1723) qui conçut le microscope le plus simple, c'est-à-dire la loupe. Il s'agissait d'une lentille biconvexe maintenue entre deux plaques de métal, avec un assemblage ingénieux permettant de déplacer l'objet et de faire une mise au point. **[1]**

Les lentilles les plus fortes avaient un grandissement d'environ 270. Observateur génial, révéla au monde scientifique la prodigieuse diversité des micro-organismes et l'incroyable richesse des milieux naturels, comme l'eau, en protozoaires, algues, levures, **bactéries**.

Dans des échantillons de d'eau de rivière, des décoctions de foin ou encore dans la salive, Van Leeuwenhoek décrivit le grouillement d'une infinie variété d'**animalcules** mobiles ou immobiles, en forme de sphère, de bâtonnet, de spirille, etc. **[1]**

Il put faire des comparaisons précises entre ces micro-organismes et des hématies ou des grains de sable. Ses magnifiques descriptions sont d'une précision telle qu'aujourd'hui encore, elles forcent l'admiration et permettent l'identification. **[1]**

Ce n'est que deux siècles plus tard que le rôle des bactéries dans les processus de fermentation et dans la transmission des bactéries a été découvert et que leur étude a commence. Les scientifiques les plus illustres de cette époque furent Louis Pasteur et Robert Koch. **[2]**

I-2-La période pasteurienne

- **Chute de la génération spontanée :**

C'est à cette époque que Pasteur réfute les thèses en cours sur la génération spontanée (selon laquelle les animalcules provenaient de la transformation de la matière organique) on montrant la présence de germes dans l'atmosphère, leur destruction par la chaleur (stérilisation) et leur rétention dans ses fameux ballons à col-de-cygne.

Les organismes et les micro-organismes ne peuvent donc apparaitre spontanément, comme on le croyait à l'époque, mais ils existent autour de nous dans l'air, l'eau, la terre; leur activité peut se révéler utile (fermentation) ou nuisible (maladie). **[1]**

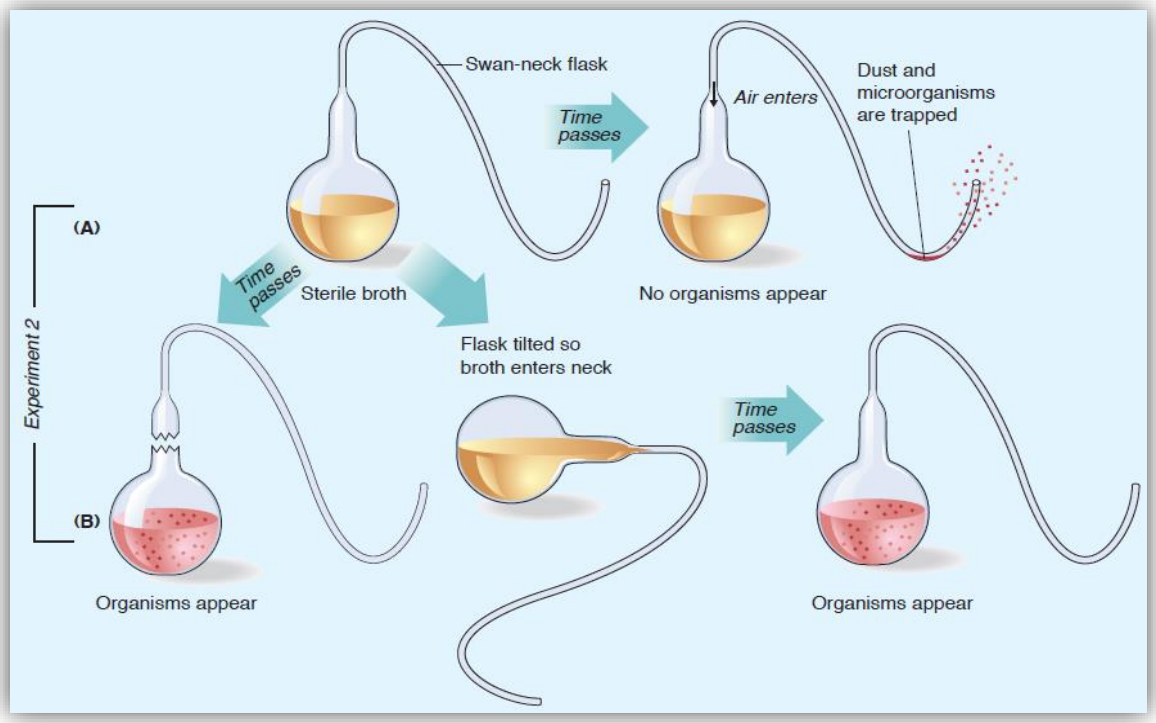


Figure N° 1 : L'expérience de Pasteur sur la génération spontanée. [3]

❖ **Pasteur et les fermentations :**

L'essor de la microbiologie au cours de la seconde moitié du XIX^{e} siècle a été déclenché puis dominé par le génie de **Louis Pasteur** (1822-1895).

En **1854**, alors qu'il est doyen de la faculté des sciences de Lille, il entreprend l'étude de la **fermentation lactique**. Il présente en 1857 son fameux mémoire ou il décrit le ferment en 1actique comme un organisme vivant, globuleux, beaucoup plus petit que la levure.

Pendant 20ans, il poursuit inlassablement ses travaux sur d'autres fermentations (alcoolique en 1858, butyrique en 1861, acétique…) et sur les maladies qui les affectent. Ces maladies sont dues à des contaminants que l'on peut détruire par chauffage à 56C°, procédé universellement connu sous le nom de **pasteurisation. [1]**

I-3- bactériologie médicale :

Luis Pasteur et **Robert Koch** (1843-1910) sont les véritables fondateurs de la **bactériologie médicale** ou la théorie des germes trouvent une nouvelle forme en même temps qu'une nouvelle vigueur.

Koch puis pasteur démontrent de manière irréfutable que la bactéridie observée par Rayer et Davaine dans le sang des animaux charbonneux est l'agent responsable (*B. anthracis*) du charbon épidémique. Dans un célèbre mémoire, Koch énonce les fameuses règles connues sous le nom de **postulat de Koch.**

Pour démontrer qu'un micro-organisme est responsable d'une maladie, il faut :

- Qu'il soit retrouvé dans tous les cas de maladie semblable
- Qu'il soit isolé en cultures pures
- Qu'il reproduise la maladie expérimentalement
- Qu'il soit à nouveau isolé à partir d'animaux infectés expérimentalement.

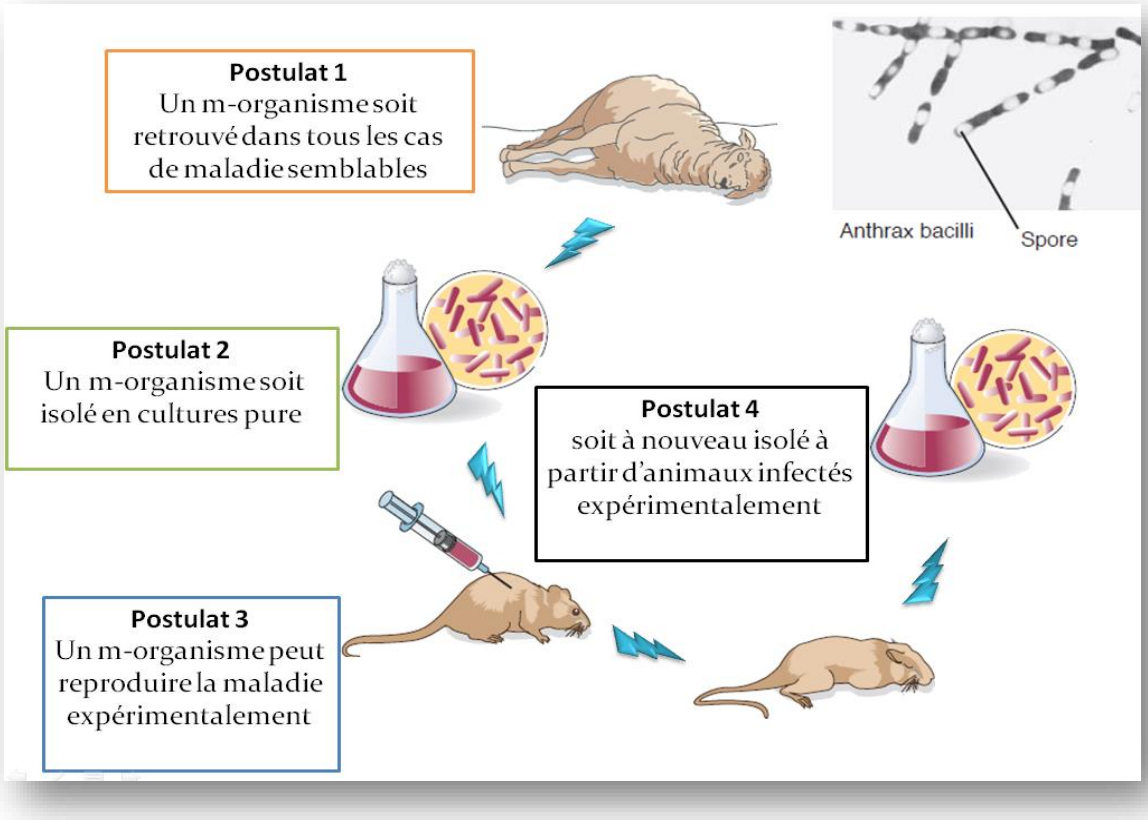


Figure N°2: Les postulats de Kock. **[3]**

Tableau 1: Principales étapes et découvertes de la microbiologie. [1]

Découvertes	Auteurs	Date
– Premier microscope	Van Leeuwenhoek	1715
– La fermentation alcoolique dans le traité élémentaire de chimie	Lavoisier	1789
– Utilisation de la vaccine pour se protéger de la variole	Jenner	1796
– Mise au point d'une technique utilisant la chaleur (« appertisation ») permettant la conservation des aliments	Nicolas Appert	1809
– Étude qualitative et quantitative de la fermentation alcoolique (complétant les études de Lavoisier)	Gay-Lussac	1815
– Nature biologique des fermentations	Cagniard-Latour (France) Schwann et Kutzing (Allemagne)	1836
– L'asymétrie moléculaire (acide tartrique)	Pasteur	1846
– Agent de la maladie du charbon épidémique et rôle des		

– *Neisseria meningitidis*	Weichselbaum	1887
– Bactéries fixatrices de l'azote et symbiotiques des légumineuses	Beijerlnck	1888
– *Clostridium tetani*	Kitasato	1889
– Bactéries nitrifiantes du sol, nature biologique de la nitrification	Winogradsky	1890
– *Clostridium perfringens*	Welch et Nuttall	1892
– *Yersinia pestis*	Yersin et Kitasato	1894
– Bactéries réductrices des sulfates	Beijerlnck	1895
– Rôle des enzymes dans le pouvoir fermentaire	Buchner	1897
– *Clostridium botulinum*	Van Ermengen	1897
– Existence des virus	Beijerlnck	1898
– *Shigella dysenteriae*	Shiga	1898
– Vaccin antitétanique		1914
– Les bactériophages	Twort	1915
– Vaccin contre la tuberculose BCG	Calmette et Guérin	1920
– Transformation des pneumocoques	Griffith	1928
– Les anatoxines	Ramon	1930
– Cristallisation du virus de la mosaïque du tabac	Stanley	1935
– Pénicilline : la reconnaissance de son rôle antibiotique et sa production industrielle	Florey, Chain, Heatley	1940-45
– L'ADN est le support des caractères génétiques	Avery, Mac Leod, Mac Carty	1944
– Recombinaisons génétiques	Lederberg et Tatum	1946
– Transduction	Zinder et Lederberg	1952
– Schéma général de la conformation spatiale de l'ADN	Watson et Crick	1953
– Théorie du code génétique	Gamow et par Watson et Crick	1954
– Publication des travaux sur « l'opéron lactose »	François Jacob et Jacques Monod	1961
– Structure en double hélice de l'ADN (Prix Nobel)	Crick et Watson	1962
– Travaux de l'École française de biologie moléculaire ; Institut Pasteur prix Nobel	Jacob, Monod et Lwoff	1965
– Théorie des gènes	Carlson	1966
– Mise au point des techniques de manipulation génétique	Cohen, Chang, Boyer, Helling	1973
– Expression d'un gène dans une bactérie		1974
– Vaccin contre l'hépatite B		1980
– Séquençage du génome du virus du SIDA		1984
– Séquencage du chromosome III de la levure		1991

II- Place des bactéries dans le monde vivant :

Avant la découverte des micro-organismes (plusieurs certaines de milliers d'espèces connues actuellement), tous les êtres vivants étaient classés à l'intérieur du règne animal ou règne végétal.

La découverte de nouvelles formes vivantes microscopiques dans le règne animal ou végétal ; parmi elles, les algues et les champignons pouvaient rapprochés des plantes ; les protozoaires mobiles et non photosynthétiques étaient plutôt considérés comme des animaux ; la place des bactéries restait à fixer.

II-1-Classification selon Haeckel (1886)

Il a proposé une solution logique en demandant la création, pour ces formes microscopique, d'un troisième règne, celui des protistes, qui rassemble les algues, les protozoaires, les champignons et les bactéries.

Il a classé les êtres vivants comme suit :

I- Règne des **animaux**

II- Règne des **végétaux**

III- Règne des **protistes** : divisés en deux grandes classes

a- Protistes supérieurs ou eucaryotes : - algues (excepté les algues bleu-vert)
- protozoaires
- champignons

b- protistes inférieurs ou procaryotes : - algues bleu-vert ou cyanophycées.
- bactéries

II-2-Nouvelle classification :

L'universalité du code génétique a montre que tous les organismes vivants, eucaryotes et procaryotes, descendent d'un seul et même ancêtre. L'étude de gènes existants chez tous les êtres vivants, du fait de fonctions métaboliques particulièrement importantes, comme ceux codant pour les ARN ribosomiques, a montre que leurs séquences ont peu varié au cours des âges et que la comparaison de ces séquences permet. **[4]**

Les procaryotes, présents à l' origine de la vie, ont donne naissance aux **Archaebactéries** et aux **Eubactéries** donnant le classement suivant :

I- la branche des ***Eucarya*** (ou eucaryotes avec 4 règnes : animal, végétal, champignons, et protistes),

II- la branche des ***Archaea*** (archaebactéries vivant dans les milieux hostiles : méthanogènes, halophiles, *Sulfolobus)*,

III- la branche des ***Eubactérie*** (bactéries proprement dites). **[4]**

Grace aux études comparatives, il est proposé un autre classement, plus ou moins arbitraire, des formes de vie en 5 règnes, tous issus directement d'un ancêtre commun :

- les **Monères** (ensemble des procaryotes, cellules sans noyau),
- les **Protistes** (ensemble des procaryotes unicellulaires avec noyau),
- les **Mycètes** (ou champignons, qui regroupent les organismes eucaryotes hétérotrophes et possédant une paroi),
- les **Végétaux** (organismes autotrophes avec paroi),
- les **Animaux** (organismes eucaryotes hétérotrophes sans paroi).

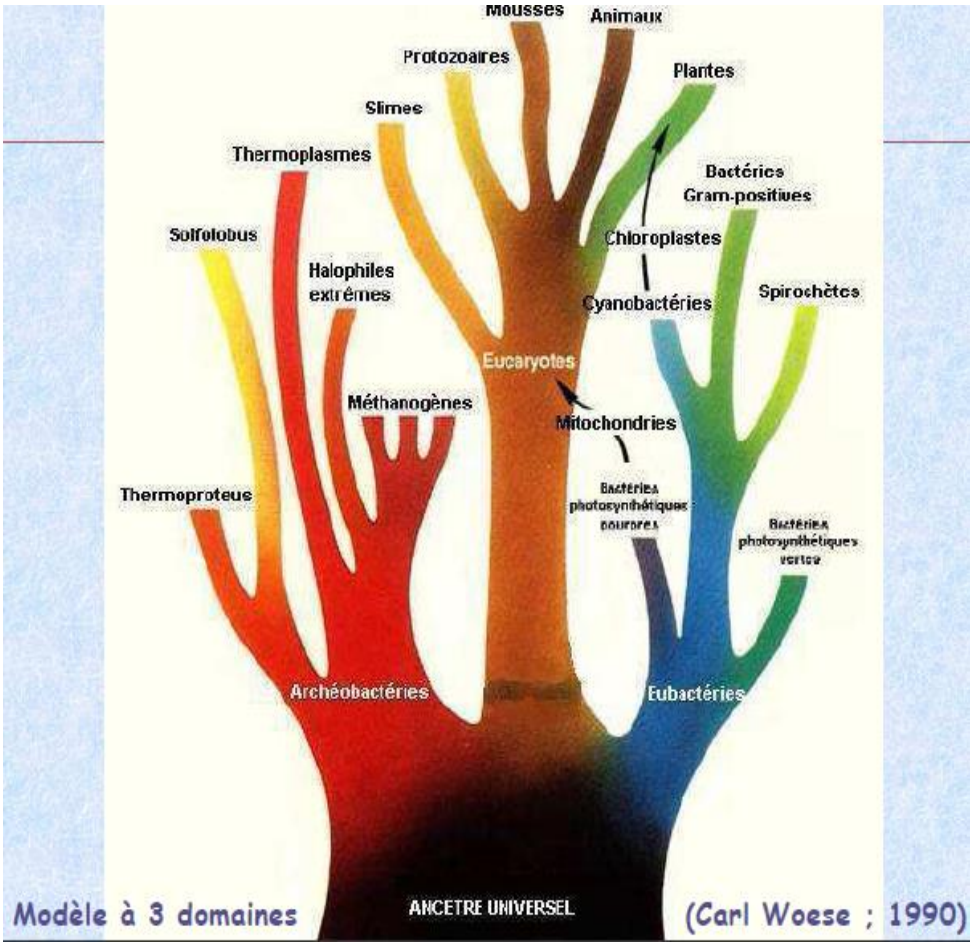


Figure N°3 : Arbre phylogénique présente les 3 domaines.

III- La classification bactérienne :

III- 1. Méthodes pour décrire et accéder à la diversité microbienne

La classification est l'arrangement des organismes en groupe ou taxon selon leur similitude ou leur parenté évolutive. Elle a pour but l'attribution d'une identité à un objet vivant. Cette attribution permet de résumer l'ensemble des propriétés assignées à un groupe d'individus de façon à prédire les propriétés d'un nouveau membre du groupe sans être obligé de l'explorer totalement. En résumé, l'assignation d'une bactérie à un taxon permet d'en déduire les caractéristiques écologiques, épidémiologiques voire thérapeutiques que possède ce taxon. La classification est donc un préalable à l'identification. **[5]**

Le maintien de la biosphère dépend en particulier des processus microbiens qui sont à la base de la vie sur Terre. L'analyse de la diversité microbienne est d'importance pour :

I- Augmenter nos connaissances de la diversité des ressources génétiques des communautés microbiennes

II- Comprendre la distribution des microorganismes,

III- Améliorer nos connaissances du rôle fonctionnel des communautés microbiennes,

IV- Comprendre la régulation de la biodiversité, et estimer dans quelle mesure le maintien de la fonction et la régulation d'un écosystème dépendent du maintien d'un certain niveau de diversité génétique.

III-2- Taxinomie et définition d'espèce

L'espèce constitue la base du modèle taxinomique. Elle est la catégorie taxinomique la plus basse et sert d'unité pour la description de la biodiversité et de l'évolution. La notion d'espèce a été, actuellement, délimitée par le Comité de taxinomie. **[6]**

Rosselló-Mora & Amann (2001) **[7]**, ont proposé de définir l'espèce comme « un groupe monophylétique et génomiquement cohérent d'organismes individuels présentant un niveau de similitude globalement élevé pour de nombreuses caractéristiques indépendantes, et détectable par une propriété phénotypique discriminante ». Donner une définition de l'espèce bactérienne applicable à tous les microorganismes semble impossible, il faudrait pour cela trouver suffisamment de critères à la fois stables et discriminants qui soient universels et vérifiables. Par conséquent, l'espèce microbienne semblerait plutôt être un concept. **[6]**

III-3. Taxinomie phénétique

Les premières classifications bactériennes, basées sur la comparaison de critères morphologiques datent de la fin du XIXe siècle. Jusqu'au début des années 1960, la définition d'une espèce, est d'une manière générale toute le taxinomie bactérienne, reposait sur une classification phénétique ou phénotypique. Cette classification utilise des caractères tels que la morphologie, la mise en évidence d'un caractère biochimique, l'habitat, le pouvoir pathogène, etc.

Observations et tests préliminaires	Coloration (Gram, bleu de méthylène…) Morphologie (bacille, coque..) Mobilité Présence de spores (déformantes, terminales) Croissance en aérobiose/anaérobiose Hémolyse sur gélose au sang Production d'une catalase
Tests métaboliques	Test à l'oxydase Test à l'uréase Test de l'indole Hydrolyse de l'hippurate Hydrolyse de l'esculine Production d'H_2S
Sérologie	Agglutination Immunochromatographie
Test d'inhibition	Milieux sélectifs Sensibilité à l'optochine Antibiotiques
Chimiotaxonomie	Acides gras Acides mycoliques Système de quinone Profil protéique par PAGE Pyrolyse - SM

Tableau 01 : Caractères de classification phénétique.

III-4- Taxinomie numérique

Suite au développement des techniques biochimiques analytiques, la classification a été progressivement modifiée en introduisant de nouveaux critères phénotypiques de comparaison. La taxinomie numérique définit par Sneath & Sokal permet de comparer les microorganismes sur la base de caractères morphologiques, chimiques et physiologiques informatifs et de représenter leurs degrés de similitudes sous la forme de dendrogrammes. **[7]**

Les tests phénotypiques fournissent d'utiles informations sur les capacités de l'organisme et peuvent aider à comprendre son rôle dans l'environnement où il vit. Malgré que les caractères biochimiques et physiologiques soient largement employés, il est connu que des souches appartenant à la même espèce n'ont pas forcément le même métabolisme et la même physiologie. Le développement de la phylogénie moléculaire, a donné un nouvel élan dans la taxinomie en apportant un critère de classification supplémentaire. La phylogénie tente d'établir les relations de parenté par comparaison de gènes. **[7]**

III. 5. Taxinomie phylogénétique

Dès 1936, Kluyver et Van Niel proposaient l'utilisation d'une taxinomie phylogénétique. L'établissement de relations de parentés apparaît comme nécessaire à la mise en place d'une nouvelle systématique. Il a fallu attendre la deuxième moitié du 20ème siècle pour que les outils nécessaires au développement d'une telle taxinomie soient disponibles et qu'une taxinomie phylogénétique commence à se mettre en place.

- **Détermination du G+C %**

En 1949, Chargaff *et al*. ont montré que le contenu en bases puriques et en bases pyrimidiques de l'ADN pouvait varier d'un individu à un autre mais était constant pour les individus d'une même espèce. Le contenu en base d'un ADN est exprimé par le GC %.
Chez les bactéries, cette valeur est très dispersée et varie de 25 à 75 % (Rosselló-Mora & Amann, 2001). Actuellement, on admet que les bactéries dont le contenu G+C diffère de plus de 3 % ne peuvent appartenir à la même espèce. Lorsque cette différence excède 10 %, les deux bactéries appartiennent à des genres différents. Cependant, les valeurs peuvent être identiques sans que les bactéries soient proches. **[7]**

- **Les hybridations d'acides nucléiques**

Les hybridations ADN-ADN se sont révélées essentielles pour la définition d'une espèce bactérienne. Leurs réalisations n'ont été possibles qu'après la découverte des phénomènes de renaturation de l'ADN (Marmur & Doty, 1962). Les méthodes d'hybridation ADN-ADN sont basées sur le fait que deux molécules d'ADN dénaturées peuvent se réassocier à condition de présenter une homologie. La renaturation est réalisée à partir d'un mélange de deux ADN dénaturés provenant de deux bactéries différentes. Dans ces conditions, on obtient d'autant plus de duplex hétérologues que les séquences d'ADN des microorganismes sont proches. Une espèce est définie phylogénétiquement comme des souches ayant des valeurs d'hybridation ADN-ADN supérieures ou égales à 70 % et des différences de température de fusion de brins de l'ADN (Tm) inférieures ou égales à 5 °C. **[8]**

❖ **Etude des ARN ribosomaux**

En 1980, Kimura émis le concept d'horloge « évolutionnaire » : la vitesse de l'évolution est constante, les mutations qui surviennent dans le génome n'ont pas nécessairement des conséquences phénotypiques mais elles sont étroitement corrélées avec le temps. Il est ainsi possible de construire un arbre phylogénétique en utilisant des méthodes mathématiques. La généralisation de l'analyse des séquences d'ADNr 16S a incité les auteurs à corréler les pourcentages d'identité entre les séquences d'ADNr 16S et les pourcentages de réassociations ADN-ADN. Il a été mis en évidence que des similitudes d'ADNr 16S inférieures à 97 % ne correspondent jamais à des pourcentages de réassociation ADN-ADN supérieures à 60 % **[9]** Par extension ont considère que des isolats dont les séquences ont un pourcentage de similitude inférieur à 97 % n'appartiennent pas à la même espèce. **[6]** S'il est compris entre 93 et 95 %, les deux souches appartiennent à des genres différents. **[9]** Néanmoins, deux espèces peuvent avoir des séquences des ARNr 16S très proches et être différentes par hybridation ADN-ADN. **[10]**

L'ADNr 16S utilisé d'une façon généralisée en taxinomie moléculaire présente lui aussi ses limites. Il est suffisamment discriminant pour séparer entre des espèces différentes mais il ne permet de regrouper des espèces identiques. En outre, le nombre de copies de l'opéron rrn est variable d'un organisme à l'autre et les gènes codant pour les ARNr 16S peuvent présenter une micro-hétérogénéité au sein des différents opérons rrn ; cas de *Haloarcula marismortui* qui possède 3 gènes d'ARNr 16S possédant 5 % de différences. **[11]**

IV- Nomenclature bactérienne :

La nomenclature est l'ensemble des règles qui préside à l'attribution d'un nom à chaque taxon. Elle a pour but d'unifier le langage scientifique.

L'assignation d'un nom permet de désigner le taxon sans être obligé de décrire tous ses caractères.

Ex : le placement d'une souche bactérienne dans la famille des *Enterobacteriaceae* : bacille à Gram négatif, mobile, aéro-anaérobie, fermentant le glucose, réduisant les nitrates …ect). **[12]** L'utilisation des noms scientifiques en microbiologie s'est inspirée de celle pratiquée par les botanistes et basée sur la dénomination binomiale. En 1930 lors du 1° Congrès International de Microbiologie fut formée une commission de la Nomenclature et de la Taxonomie. Le code international de nomenclature bactérienne fut publié en 1947 ; il réglemente l'usage des noms scientifiques. **[12]**

IV-1- Règles de formation des noms :

Il existe des règles qui gouvernent la nomenclature bactérienne. Leur respect conduit au concept de « nomenclature correcte ». Ces règles sont rassemblées dans le « Code International de Nomenclature des Bactéries » établi par la « Commission Judiciaire » (Juridical Commission) du « Comité International de Systématique des Procaryotes » (ICSP). Une nomenclature est légitime si elle respecte ces règles. **[12]**

Le système binomial du botaniste suédois **Carl Von Linné** est utilisé. La première partie du nom est le nom de genre, la seconde partie est l'épithète ou le nom de l'espèce.

1-Nom de genre : Il est imprimé en italique (ou souligné dans les textes manuscrits) et sa première lettre est majuscule. Après sa première citation le nom de genre est abrégé à sa première lettre sauf si ambiguïté. Le nom de genre est en principe féminin.

2- Nom d'espèce Il est imprimé en italique (ou souligné dans les textes manuscrits) et sa première lettre est minuscule.

Exemple : ***Staphylococcus aureus***

3- Nom de famille : Ils sont fondés sur un nom de genre valide, ils sont féminin pluriel et se terminent par : **-aceae.**

Exemple :

Rang taxonomique	Exemple
Règne	Procaryotae
Division	*Ténéricutes*
Classe	*Mollicutes*
Ordre	*Mycoplasmatales*
Famille	*Mycoplasmatacae*
Genre	*Mycoplasma*
Espèce	*M.pneumoniae*

Chapitre 2 : La structure bactérienne

Introduction :

Une bactérie est une cellule unicellulaire, procaryote (dépourvue de noyau). Elle ne possède pas de membrane nucléaire, ni d'appareil mitotique et ne possède qu'un seul chromosome circulaire d'ADN, codant le plus souvent pour 1000 à 4000 gènes.

Les bactéries se reproduisent par scissiparité et la plus part d'entres eux ont une paroi rigide formée de peptidoglycane. [13] Leur taille moyenne varie de 0.5 à 2 µm de large et 2-6 µm de long, parfois beaucoup plus. [14] Elles ne sont donc visibles qu'au microscope optique ($x10^3$) ou au microscope électronique ($x10^6$).Elles peuvent être distinguées par divers procédés physiques et chimiques, ce qui permet d'étudier les constituants bactériens ainsi libérés. [15]

I. Morphologie de la bactérie :

L'étude de la morphologie bactérienne est le premier acte effectué par un laboratoire de diagnostic, trois critères sont pris en compte : la taille, la forme et le mode d'assemblage. [15]

I.1.La taille :

La taille des bactéries varie autant que leur forme.Les plus petites (par exemple quelques membres du genre mycoplasma) ont environs 0.3µm de diamètre, approximativement la taille des plus grands virus (les poxvirus).On a même trouvé récemment des cellules encore plus petites.Ces nanobactéries ont un diamètre 0.2 µm environ à moins de 0.05 µm. E.coli est un bacille de taille moyenne, soit 1.1 à 1.5 micro de large et 2.0 à 6.0 µm de long.

Quelques bactéries sont vraiment grandes. Certains spirochètes peuvent atteindre 500 µm de longueur et la *cyanobactérie oscillatoria* à environ 7 µm de diamètre (le même diamètre qu'un globule rouge).

Plus récemment une bactérie encore plus grande a été découverte dans un sédiment océanique. Il s'agit de *thiomargarita namibiensis*.[16]

I.2.Formes et modes de groupement:

La forme des bactéries peut différer fortement d'une espèce à l'autre [17], elle dépond surtout de sa paroi (peptidoglycane) et au mode de septation propre à chaque espèce bactérienne. [18] Nous retiendrons trois formes principales :

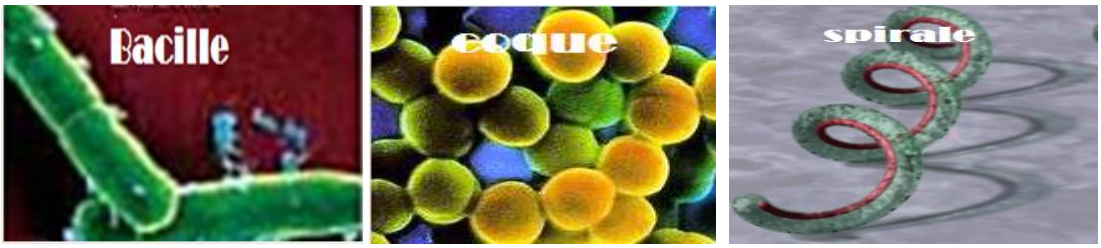
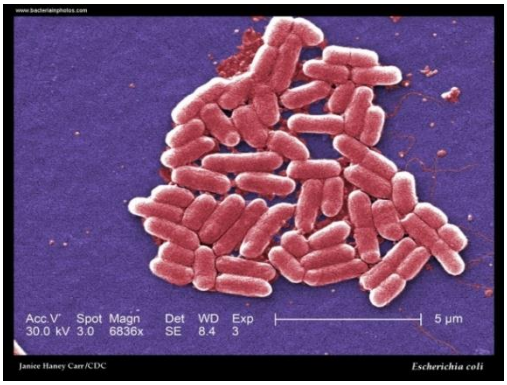


Figure N°01 : Les trois principales formes des bactéries. [19]

I.2.1.Les formes cylindriques ou en bâtonnet :

Permettent de définir des bacilles (du nom masculin latin *Bacillus* = une baguette) qui peuvent être droits, incurvés ou ramifiés. [20]

- **Les bacilles rectilignes :** Peuvent avoir des extrémités arrondies (*enterobacteriaceae*) ou être rectangulaires (*Bacillus*) [20], ou posséder deux extrémités effilées « fusiforme » (*fusobacterium*). [17]
- **Les bacilles incurvés :** caractérisent certains genres comme *vibrio* et *campylobacter*. [17]
- **Les bacilles ramifiés :** (dont les ramifications peuvent être extrêmement discrètes et visibles uniquement à certains stades de la croissance) sont nombreux au sein de l'ordre des actinomycétales. [20]

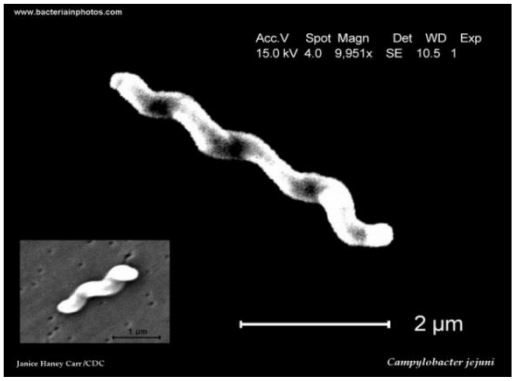


-a-



-b-





-c- -d-

Figure N°02 : Les principales formes de bacille

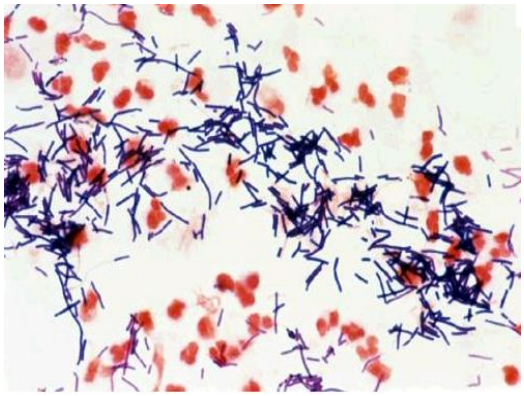
a) *E.coli* (MEB) b) *corynébactérium* (coloration de gram)

c) *vibrio cholera* (MEB) d) *campylobactere* (MEB).

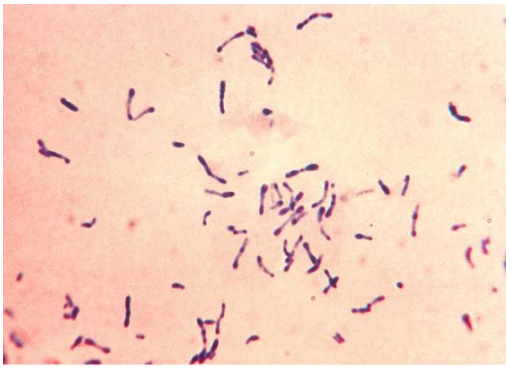
Les bacilles selon leur genre peuvent s'organiser de différentes façons :

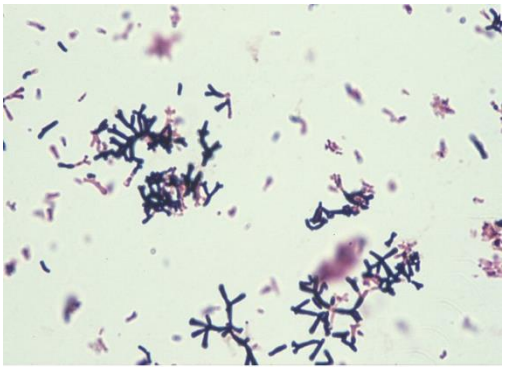
- en ***chaine*** (bacillus anthracis,lactobacillus)
- en ***palissade***,en ***lettres chinoises*** ou en ***paquets d'épingles*** (corynébactirium)
- en ***Y*** (bifidobacterium)
- en ***V*** ou en *L* (Listeria). [21]





-a- -b-





-c- -d-

Figure N°03 : Les différents groupements des bacilles

Coloration de gram : a-*bacillus anthracis* b-*lactobacillus acidophilus*

c-*corynebacterium* d-*bifidobacterium*

II.2.2. Les formes sphériques ou ovoïdes :

Caractérisent les coques (nom masculin dérivé du nom grec kokkos=un grain), qui peuvent être parfaitement sphériques (*staphylococcus*) ou présenter une face aplatie (*neisseria gonorrhoeae)* ou légèrement ovoïdes (*entérococcus*). [20]

Beaucoup d'espèces peuvent être observées sous forme isolée. Certains se devisent toujours dans le même plan pour former :

- ***Diplocoques*** : [22]

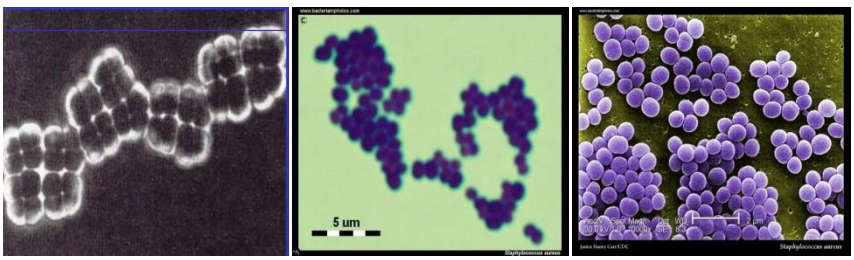
- Un aspect enfilé en flamme de bougie (les pneumocoques)

- Réniformes ou en grains de café (les gonocoques ou les méningocoques). [23]

- ***Chainettes*** plus ou moins longues **(**streptocoques**)**.
- D'autres se multiplient dans deux plans perpendiculaires et forment des ***tétrades*** **(**pédiocoques**)**.
- Avec trios plans perpendiculaires de division, on obtient des amas ***cubiques*** (les sarcines).
- Enfin, les coques admettant de nombreux plans de division produisent des amas plus ou moins irréguliers dits en ***grappe*** (les staphylocoques). [22]



-a- -b- -c-



-d- -e- -f-

Figure N°04 : aspect et groupement des principales bactéries de forme sphérique.

a) *streptococcus pneumoniae* b) *nisseria miningitidis* c) *streptocoque*

d) *sarcina* e, f) *staphylococcus aureus*

II.2.3.La forme spiralée :

Beaucoup de bactéries ont une forme de long bâtonnet tordu en spirale ou en hélice, elles sont appelées spirilles si elles sont invariables et rigides (spirillum) et spirochètes si elles sont flexible et peuvent changer de forme (*spirochaeta*,leptospira).



-a- -b-

Figure N°05 : Les formes spiralées

a) *borrelia* de lyme (MEB) b) *spirilum*.

II. Anatomie fonctionnelle de la bactérie :

C'est la microscopie électronique avec ses différents modes d'exploitation qui a mis en lumière l'architecture de la bactérie. [22]

Au niveau de la structure bactérienne, il est classique de distinguer des éléments obligatoires présents chez toutes les bactéries et des éléments dont la présence est facultative et caractérise certains groupes bactériens. [20]

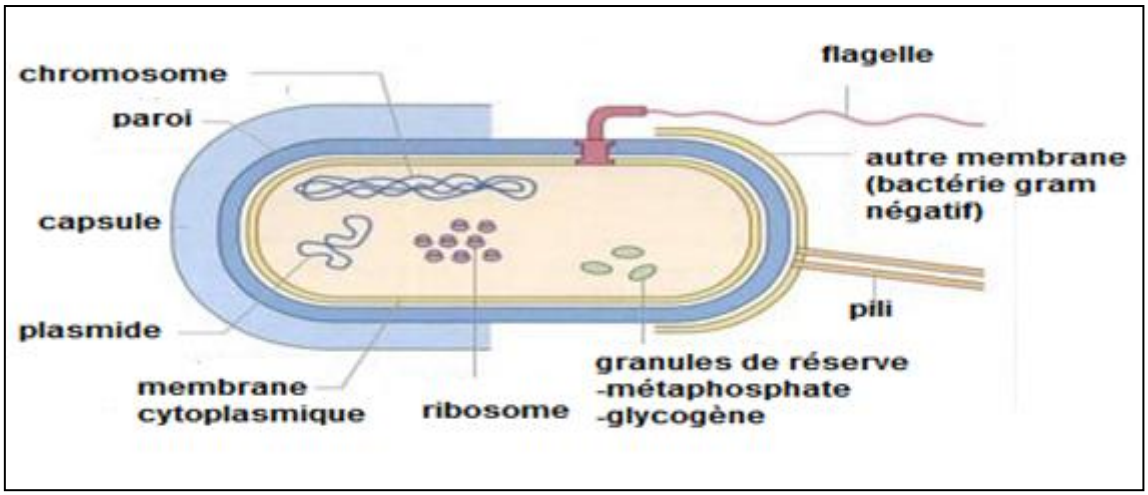


Figure N°06: Schéma général de la cellule bactérienne. [22]

II.1.Les éléments obligatoires :

II.1.1.Le matériel nucléaire ou génome:

La bactérie possède un génome non délimité par une enveloppe nucléaire : un chromosome unique de la cellule, circulaire sous forme d'une ADN sans histones [24],il se trouve dans une région de forme irrégulière appelée nucléoide. Cependant, quelques bactéries ont deux même trois chromosomes (*brucella melitensis* 2 ;*vibrio cholerae* 2 ; *rhizobium melitoti* 3) Certaines rares bactéries ont un chromosome linéaire comme *borellia burgdorferi*.

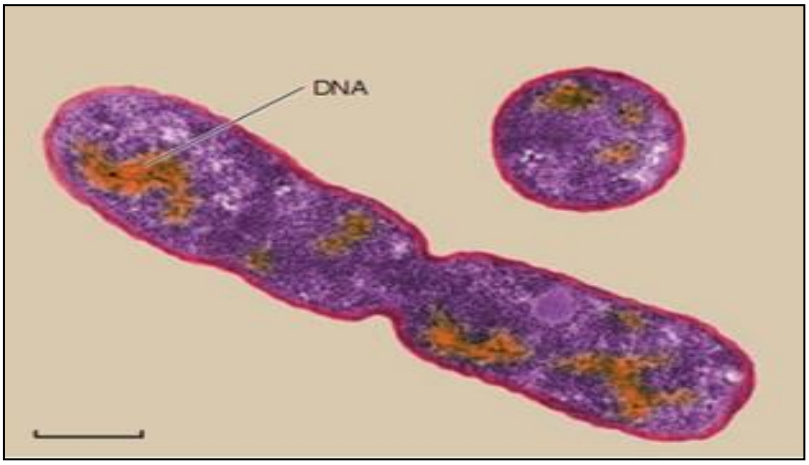


Figure N°07: ADN bactérien

Le génome bactérien n'intervient que dans 2% du poids sec de la bactérie [16], son analyse chimique montre qu'ils contiennent environs 60% d'ADN ,30% d'ARN,et 10% en poids de protéines. [25] et dont l'ADN fait un peu plus de 1mm de long, il doit donc posséder

une structure qui prend le moins de place possible dans la cellule, pour cela il est sous forme super enroulé, structure maintenue par des protéines de liaison. [23]

La structure de la molécule d'ADN est maintenant bien connue par les travaux de watson et crick.. [26] Elle est bicaténaire et constituée de deux chaines, chaque chaine est constituée d'une succession d'acide phosphorique et de désoxyribose sur lequel est fixée une base azoté .Il existe quatre bases azoté complémentaires deux à deux : adénine (A) et thymine (T) d'une part, cytosine (C) et guanine (G) d'autre part. Les deux chaines sont reliées entre elles par les bases azotés; elles sont donc complémentaires l'une de l'autre. [20]

L'ADN est le support du programme selon lequel se déroule **la biosynthèse des protéines bactériennes**. Ces protéines ont un rôle structural ou une activité enzymatique. C'est donc bien l'ensemble des caractères de la bactérie est sous la dépendance de l'ADN. [23] Le chromosome bactérien est la cible des quinolones (1ère et 2ème génération), des oxyquinoléines ,des nitrofuranes et des nitro imidazolées (antibiotique). [20]

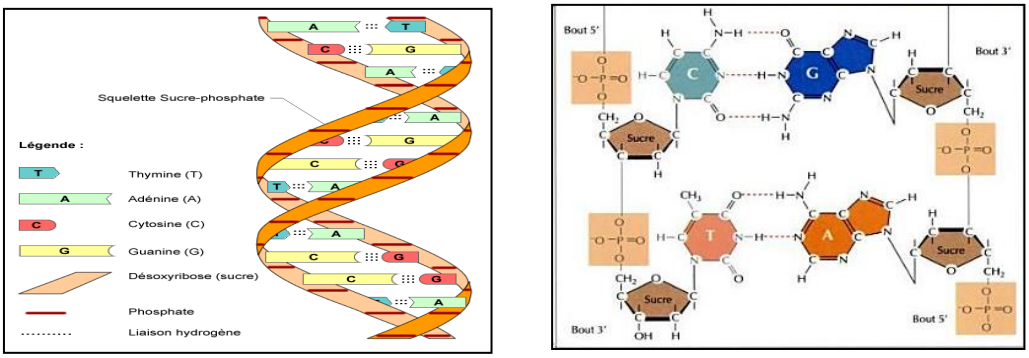


Figure N° 08: La structure de l'ADN bactérien. [27]

II.1.2.Le cytoplasme :

Le cytoplasme procaryote, au contraire de celui des eucaryotes est dépourvu d'organites délimités par une membrane. [16] Il contient beaucoup d'eau (l'eau représente 70% de la masse bactérienne). [19]

Physiquement, le cytoplasme bactérien est intermédiaire entre l'état liquide et l'état solide :

- Du **liquide**, il a la fluidité et la viscosité, permettant ainsi les échanges nécessaires à la vie cellulaire.
- Du **solide**, il possède la résistance et l'élasticité qui permettent l'indépendance physiologique de certaines zones privilégiées.

Cet état dit d'hyaloplasme homogène, résulte de l'existence d'un réseau de longues chaines protéiques véritable squelette cellulaire enserrant dans ses mailles lipides et protides,

le tout en milieu aqueux. [23] Les bactéries n'ont donc pas de vrai cytosquelette mais un système de protéines cytoplasmiques analogues à un cytosquelette. [19]

En microscopie électronique, le cytoplasme bactérien apparait granulaire : chaque granulation de 20 nm environs, de forme sphérique ou cylindrique, correspond à des ribonucléoprotéines constituants le ribosome.

II.1.3.Les ribosomes :

Les ribosomes sont particulièrement présents à proximité de la membrane cytoplasmique, site de synthèse de la paroi et des protéines exportés. [26]Vus à faible grossissement au microscope électronique, ils ressemblent à des petites particules uniformes. [16] Ils sont légèrement plus petits que les ribosomes eucaryotes, on les appelle souvent ribosome 70s. Ils comportent deux sous unités s'emboitant (30s et 50s) « le s de 70s est l'unité de svedlberg » (c'est l'unité de coefficient de sédimentation, dépend de la masse moléculaire de la particule ,de son volume et de sa forme) et mesurent à peu prés 14 à 15 nm sur 20 nm et ont une masse moléculaire d'environs 2.7 millions. Ils sont constitués exclusivement d'ARN (63%) et de protéines (37%). [22]

Ils sont associés sous forme de polysomes qui assurent la synthèse des protéines. [20] « Les ribosomes présents dans le cytoplasme synthétisent les protéines intracellulaires tendis que les ribosomes liés à la membrane plasmique fabriquent les protéines qui sont exportées ». [25] et sont la cible de nombreux antibiotiques comme les aminosides, les phénicoles. [20]

II.1.4. Les Granulations et substances de réserve :

La bactérie peut accumuler des matériaux organiques ou inorganiques constituant généralement des réserves d'énergie. Lorsque ces substances atteignent une taille suffisante, elles forment des granulations, visibles quelquefois au microscope. D'une façon générale, chaque espèce ou chaque groupe bactérien synthétise une seule catégorie de substances. [23], comme les inclusions servent à la mise en réserve ,leur quantité varie avec l'état nutritionnel de la cellule. [25]

II.1.3.La membrane cytoplasmique :

II.1.3.1.Structure :

La membrane cytoplasmique entoure le cytoplasme et présente la structure lipoprotidique de toutes les membranes cellulaires [20], mais à la différence des membranes eucaryotes, les membranes bactériennes sont dépourvues de stérol. [19] Elle est très souple.

[20] C'est le point principal de contact avec l'environnement et responsable des rapports avec le monde extérieur. [19]

La structure révélée en microscopie électronique est conforme à l' « unit membrane » ou membrane de base, son épaisseur est de 7.5 nm environ. Elle possède un feuillet interne transparent de nature lipidique pris en « sandwich »entre deux feuillets denses, opaques aux électrons, de nature protéique.

La structure biomoléculaire de la membrane cytoplasmique n'est pas statique : elle se conforme au modèle dit de **mosaïque fluide**. [17]

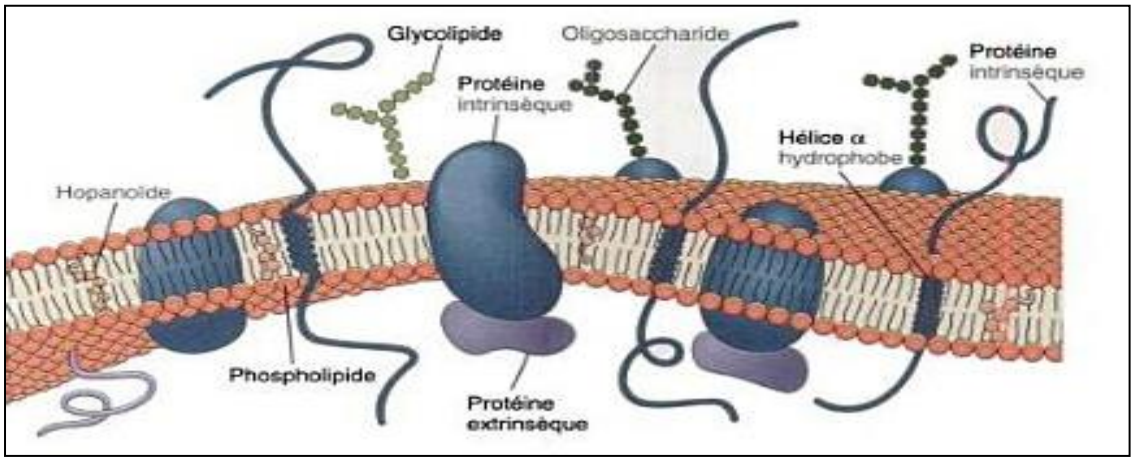


Figure N°09 : La structure de la membrane plasmique. [19]

Son analyse biochimique montre qu'elle est riche en phospholipides (phosphatidylglycérol et phosphatidyléthanolamine : 30 à 40 % de masse sèche), assemblées de façon comparable à l'enveloppe externe des bacilles à gram négatif : les pôles hydrophiles constituent les feuillets externes et internes de la membrane alors que les chaines d'acides gras sont regroupées pour former une zone centrale hydrophobe.

Les protéines représentent le constituant majeur des membranes cytoplasmiques : 70% de la masse sèche. Certaines traversent la membrane de part en part (protéines transmembranaires), d'autres flottent dans la masse des phospholipides.

Les glucides, sont peu représentés (10 % environs).Ils sont associés aux protéines de surface (glycoprotéines) et aux phospholipides (glycolipides). [28]

- **Les mésosomes :**

Ils constituent probablement une partie de la membrane plasmique, se sont des invaginations de la membrane plasmique en forme de vésicules, de tubes ou de lamelles. [16]

chimiquement différente et plus fragile à la fixation que le reste de la membrane. [22] qui se trouvent à coté des septums dans les bactéries en division. Ils semblent parfois attachés au chromosome bactérien. Ils jouent donc peut être un rôle dans la formation de la paroi durant la division ou un rôle dans la réplication du chromosome et la distribution aux cellules filles. [16]

II.1.3.2.Rôle :

La membrane plasmique des cellules bactériennes doit remplir un grand nombre de rôles différents, certaines de ces fonctions principales : [25]

1- Responsable **des échanges** entre la bactérie et le milieu extérieur, soit de façon passive, soit de façon active (par la présence de protéines de transport appelés **protéases**).

- Empêche la fuite des constituants du cytoplasme (certaines acides aminés, glucides ou ions minéraux y sont concentrés jusqu'à 1000 fois par rapport au milieu extérieur).
- Assure la pénétration sélective des nutriments par :

  - **Diffusion simple**, pour les petites molécules dont la concentration est plus élevée dans le milieu extérieur que dans le cytoplasme.

  - **Diffusion facilitée** : la substance voyage alors au travers de la membrane liée une protéine porteuse.

  - **Transport actif** : certains nutriments essentiels doivent pénétrer dans le cytoplasme contre le gradient osmotique. Ce transport consomme de l'énergie et est catalysé par l'action de perméase.

2- La membrane plasmique bactérienne est aussi le site d'une série de **processus métaboliques essentiels** : la respiration, la photosynthèse, la synthèse des lipides et des constituants de la paroi cellulaire et probablement la ségrégation chromosomique.

3- Contient des **molécules réceptrices spéciales** qui permettent à la bactérie de détecter et de répondre à des substances chimiques présentes dans leur environnement. [22]

La membrane plasmique est détruite par les antibiotiques du groupe des polypeptides et les antiseptiques. Les aminosides modifient la perméabilité de la membrane cytoplasmique en provoquant l'incorporation de protéines imparfaites). [25]

II.1.4. La paroi :

Il s'agit d'une enveloppe rigide que possède toutes les bactéries (à l'exception des rares espèces qui en sont dépourvues : les mycoplasmes). [29] Cette rigidité est liée à la présence

d'une grosse molécule appelée peptidoglycane. [22] qui est la partie commune à toute la paroi bactérienne en dehors de bactéries halophiles ou thermophiles (*archaea*). [23]

La paroi entoure la membrane cytoplasmique et détermine la forme de la bactérie. [20] Elle représente 20% du poids sec de la cellule bactérienne, on y rencontre des éléments diversement représentés selon les espèces, la coloration de gram révèle très grossièrement ces différences [23]

Selon l'épaisseur de la paroi en distingue deux grandes familles (gram + et gram -) grâce à une technique de coloration : la coloration de gram). [22]

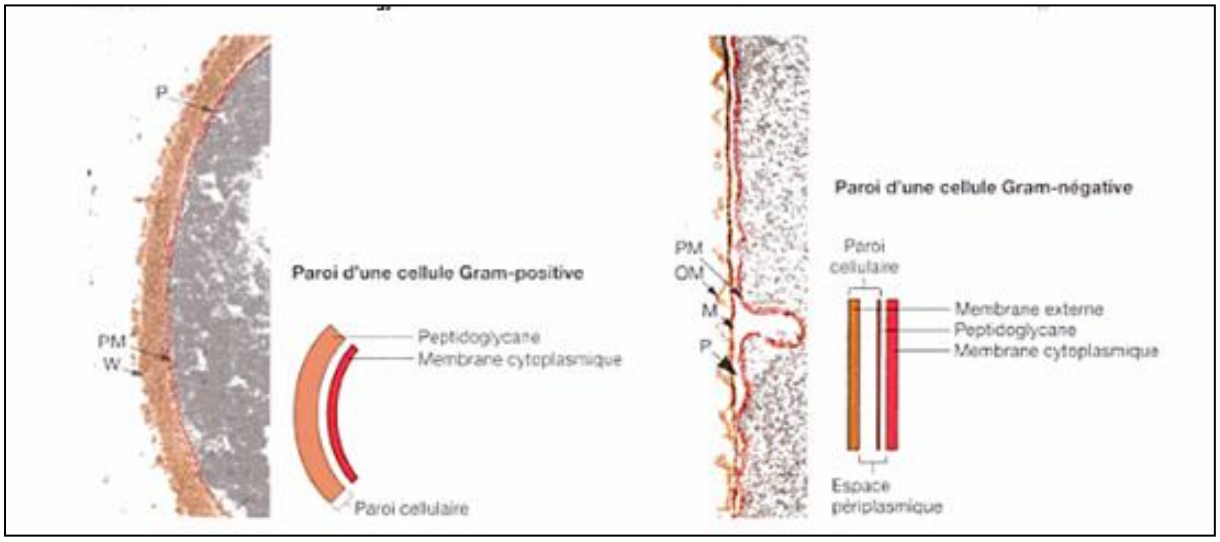


Figure N°10 : Différence entre paroi de bactérie gram positif et gram négatif. [19]

II.1.4.1.Structure et fonction de peptidoglycane :

Le terme peptidoglycane a été introduit par Weidel et Pelzer pour décrire un sac rigide du volume et de la forme de la cellule. [18] Plusieurs autres termes peuvent être utilisés : glycopeptide, muropeptide, mucopeptide, glucosamino-peptide et mycopolymere, mais le plus fréquemment employé est muréine. [30]

La muréine est une structure unique aux cellules procaryotes, absente chez les cellules eucaryotes et chez quelques groupes de bactéries comme chlamydia . [14]

Le peptidoglycane est un énorme polymère réticulé composé de nombreuses sous unités identiques. Le polymère contient deux dérivés glucidiques ; **la N-acétyle glucosamine** et l'acide **N-acétyle muramique** (l'éther lactique de la N-acétylglucosamine) et plusieurs acides aminés différents [16] dont trois peuvent être qualifiés de majeurs parce qu'ils sont isolés régulièrement chez la plupart des bactéries. Ce sont : **la D-alanine** et la **L-alanine**,l'**acide**

glutamique,**la lysine** ou l'**acide diaminopimélique** . [23] (l'acide D –glutamique, la D –alanine et l'acide méso–diaminopimélique, ne sont pas présents dans les protéines). [16]

Cette structure de polymère en réseau, qui donne à la cellule sa rigidité, est caractérisée par :

- ✓ L'alternance de résidus de N-acétylglucosamine et de résidus d'acide N-acétylmuramique reliées entre eux par des **liaisons glycosidiques B-1,4** .
- ✓ Un **tetrapeptide** constitué d'acides aminés L alternant avec des acides aminés D est lié au groupe carboxyle de l'acide N-acétylmuramique. [23] Le premier acide aminé est généralement de L-alanine et la quatrième est toujours la D-alanine ; le D-glutamate en position 2, l'acide diamino-pimélique, la lysine ou un autre acide aminé en position 3 .
- ✓ Le **pontage** entre la D-alanine d'un tétrapeptide et la L-lysine d'un autre tétrapeptide voisin,se fait grâce à un **pentapeptide de glycine.**[16]

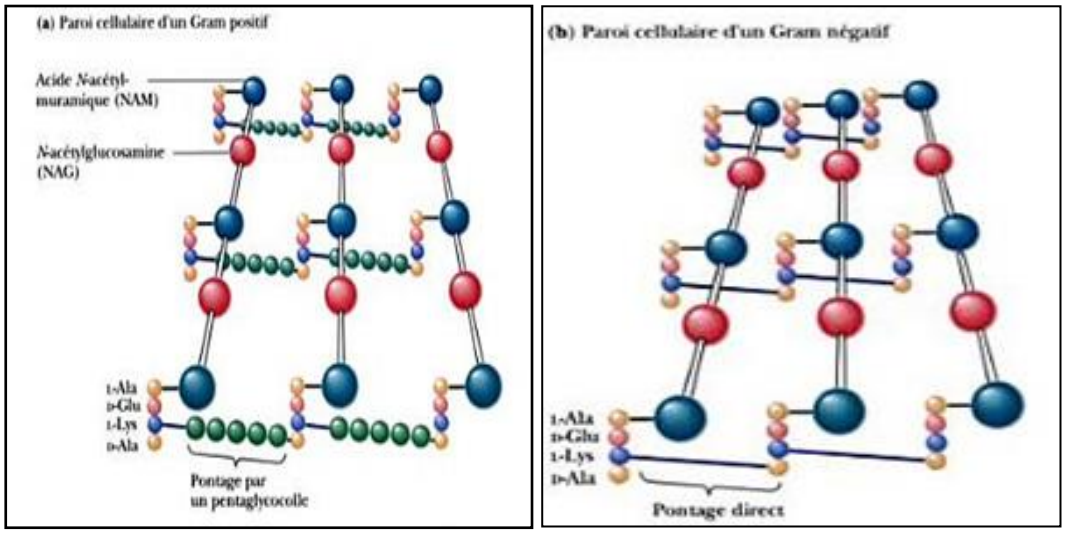


Figure N°11 : Structure de peptidoglycane. [19]

Le peptidoglycane est la cible d'un enzyme présent dans tout le règne vivant, le lysozyme qui découpe les chaines glucidiques quand elles sont accessibles (germes à gram positif). Des antibiotiques (B-lactamines ,glycopeptides et fosfomycine) perturbe la synthèse de peptidoglycane structurellement le plus important de la bactérie.[15]

II.1.4.2. La coloration de Gram :

C'est une coloration qui permet de mettre en évidence les propriétés de la paroi bactérienne. [26], dont le principe consiste à soumettre un frottis bactérien séché et fixé à l'action d'un colorant primaire violet (violet de Gentiane dans le cas de coloration de Gram classique ou violet cristal pour la coloration de Gram standard dite Gram américain) puis à un

mordançage au Lugol (solution iodo-iodurée), à ce stade le cytoplasme de toutes les bactéries est coloré en violet.

L'étape suivante la plus délicate est la différentiation à l'alcool .Elle consiste à soumettre les bactéries ayant subi la coloration primaire violette à l'action contrôlée de l'éthanol.[29] ,les cellules bactériennes réagissent de deux façons et forment deux groupes:

Les unes dites à ***gram négatif***, se décolorent rapidement à l'action du solvant ;les autres ,au contraire conservent leur coloration violette et sont dites à ***gram positif*** . [26]

Pour accentuer le contraste, la préparation est finalement traitée par un colorant rose (Fuschine pour le Gram classique, safranine pour le Gram standard) : les bactéries à gram négatif se colorent en rose, tendis que celles à gram positif restent colorées en violet.

La coloration de gram traduit donc bien une différence de structure pariétale chez les bactéries en même temps qu'une différence fonctionnelle. [26]

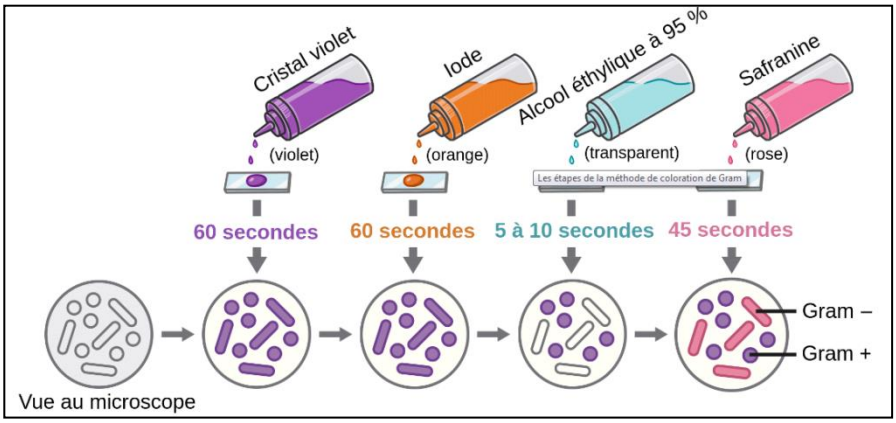


Figure 1 : Les étapes de coloration de Gram

II.1.4.3. La paroi des bactéries gram positif :

Les bactéries gram positif protègent leur membrane avec une paroi homogène et si épaisse de **peptidoglycane** (jusqu'à 30 couches) dont l'épaisseur varie de 15 à 80 nm. [31]

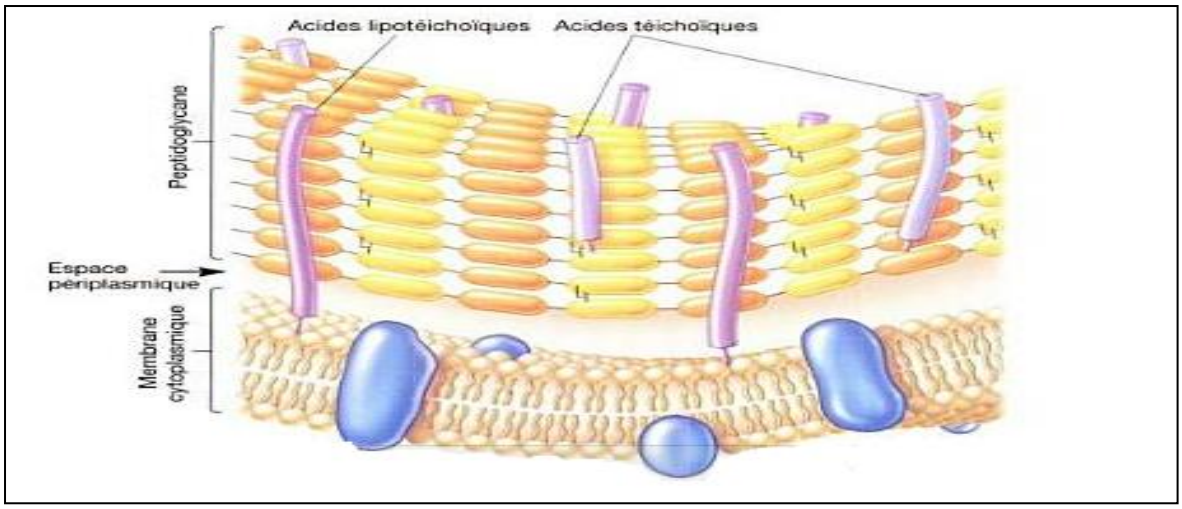


Figure N°12: L'enveloppe des bactéries gram positif. [30]

Il existe aussi des constituants mineurs d'un point de vue quantitatif :

1- Les acides teichoiques : quantitativement le deuxième composant. Ce sont des

polymères de robitol phosphate ou de glycérol phosphate liés par des liaisons phosphodiester.

Dans ces hétéroglycanes, une liaison osidique s'établie entre un hydroxyle libre du ribitol ou du glycérol et un ose (en général un glucose ou N-acétylglucosamine) ou un diholoside. Ils jouent un rôle dans les transferts d'ions et dans la fixation de certaines protéines par intermédiaire d'un ion calcium. [28]

De nombreux acides teichoiques sont antigéniques, et certains servent de récepteurs à des bactériophages. [32] Il n'y a pas d'acides teichoiques chez les bactéries gram négatives. [30].

2- Les acides lipoteichoiques : polymère de glycérol et de phosphore sont fixés par leur partie lipidique dans la membrane cytoplasmique et s'étendent dans la paroi et au delà, ils jouent le même rôle que les acides teichoiques mais interviennent aussi dans l'adhérence aux cellules et ont un faible effet toxique. [28]

II.1.4.4.La paroi des bactéries gram négatif :

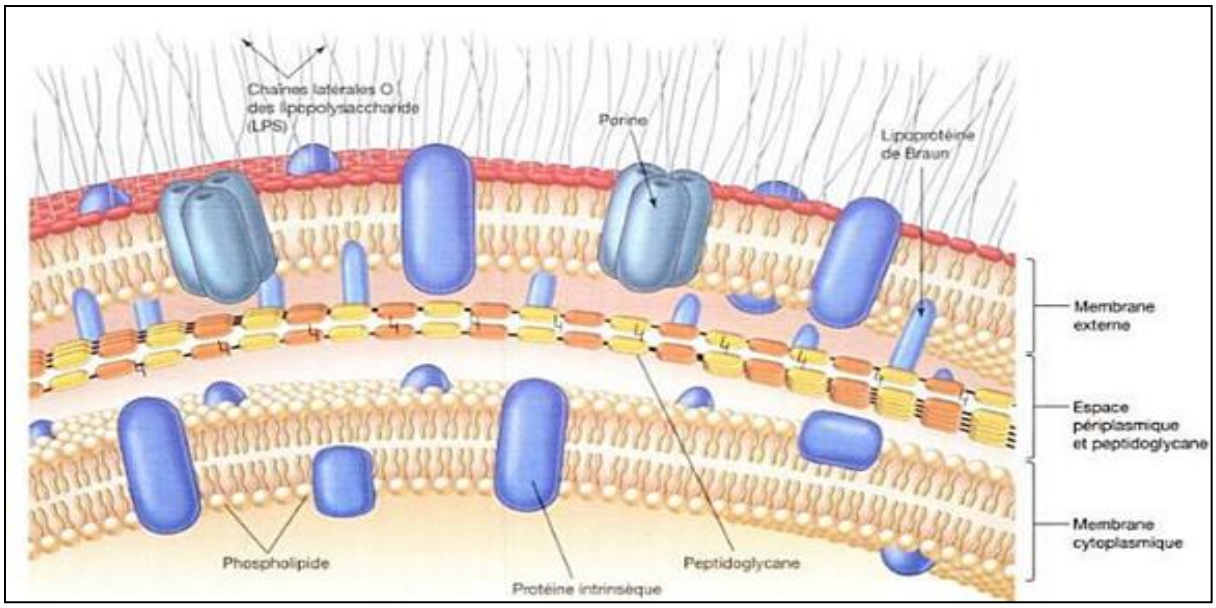


Figure N°13 :L'enveloppe des bactéries gram négatif. [30]

La paroi des bactéries gram négatif est fort complexe. [28] Elle se compose d'une couche unique de polypeptidoglycane, laquelle a une épaisseur d'environs 2 à 7 nm. A l'intérieur de celle-ci se trouve la membrane cytoplasmique, à l'extérieur la membrane externe, [31] dont l'épaisseur varie de 7à 8nm. [28]

La membrane externe est une alternance de zones hydrophobes et hydrophyles. [28] Les éléments les plus particuliers de la membrane externe sont les **LipoPolySaccarides LPS**, ces grandes molécules complexes contiennent à la fois des lipides et des glucides .Elles sont formées de trois parties : **le lipide A**, **le polysaccaride central** et **la chaine latérale O.**

- ***La région de lipide A*** : est ainsi **amphiphile**, possédant une partie hydrophobe et une partie hydrophile, cette propriété est essentielle à son pouvoir toxique. [28] Elle contient deux dérivés de glucosamine portant chacun trois acides gras et des groupements phosphate. Les acides gras fixent le lipide A à la membrane externe tendis que le reste de la molécule de LPS est projeté vers l'extérieur. [31] En tant que constituant majeur du feuillet externe de la membrane externe, le lipide A aide à stabiliser la structure de cette membrane.
- ***Le polysaccaride central*** est fixé au lipide A. [28]
- ***L'antigène O*** est une longue chaine, pouvant contenir jusqu'à 40 sucres. [33] s'étendant vers l'extérieur à partir du polysaccaride central. Elle est constituée de quelques sucres particuliers et sa composition varie selon les souches bactériennes. [28]

Le LPS peut participer à l'attachement des bactéries sur les surfaces et à la formation des biofilms. Il a un rôle important en intervenant dans la création d'une barrière de perméabilité (les LPS restreignent l'entrés des sels biliaires, des antibiotiques et autres substances toxiques qui pourraient tuer ou endommager la bactérie). [28] Le lipide A est souvent toxique, les LPS peuvent donc agir comme une **endotoxine.**

Le système double membrane des bactéries gram négatif crée un compartiment appelé ***espace périplasmique*** ou ***périplasme*** autour de la membrane cytoplasmique (ou interne).Ce compartiment contient la couche de muréine ainsi qu'une solution ressemblant à un gel et qui est formé d'éléments facilitant la nutrition talques des enzymes (phosphatases, nucléases, protéases,…) réduisant les grosses molécules imperméables « digestes ».

De plus le périplasme contient des protéines de liaison qui permettent d'absorber les sucres et les acides aminés du milieu. Il contient également des enzymes, les B- lactamases qui inactivent les B- lactamines (pénicillines ou céphalosporines). [33]

Dans la membrane externe se trouvent enchâssées des protéines (dont une zone est hydrophobe) : ***les porines***. [28] Il s'agit de canaux spéciaux qui permettent la diffusion passive de composés hydrophiles tels que des sucres , des acides aminés et certains ions. Ces canaux ou porines sont des molécules protéiques munis de trous. [33]

Une des fonctions les plus importantes de la membrane externe est de servir de barrière de protection. Elle empêche ou diminue l'entrée des sels biliaires , des antibiotiques et autres substances toxiques qui pourrait tuer ou endommager la bactérie.

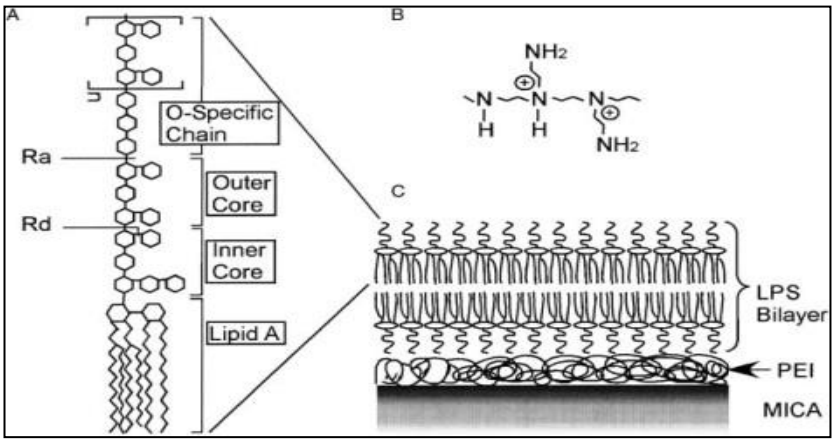


Figure 1 : Schéma représente la structures de LPS

II.1.4.5. La paroi des bacilles acido-alcoolo-résistantes :

La paroi des mycobactéries diffèrent de celle des autres bactéries : elle est particulièrement riche en **lipide** (jusqu'à 70% de poids de la paroi). ; les mycobactéries sont des acido-alcoolo-résistantes et sont mise en évidence par la coloration de zieel neelsen. [20]

Les mycobactéries sont considérées comme des bactéries à gram positif mais leur paroi a une structure très spéciale. Au microscope éléctronique, on distingue trois couches, une ***couche basale dense*** aux électrons de 3 à 13 nm d'épaisseur, une ***couche transparente*** aux électrons de 8 nm d'épaisseur et une ***couche externe***.

La couche basale : est composée de peptidoglycane, dans lequel **l'acide N-glycosylmuramique** remplace l'acide N-acétylmuramique.

La couche transparente aux éléctrons est composée d'**acides mycoliques** qui estérifient l'arabino-galactane, acides gras particuliers à très longue chaine. Ils forment alors des **cires**. La présence de ces cires de mycolates d'arabinogalactane dans la paroi fixées sur le peptidoglycane est cause de l'AAR. [34]

La couche externe : sorte de capsule, est de composition et structure complexes.

Les lipides externes constituent une barrière, la membrane externe des *mycobacteriaceae*. Cette couche externe explique la résistance des mycobactéries dans l'environnement. [28]

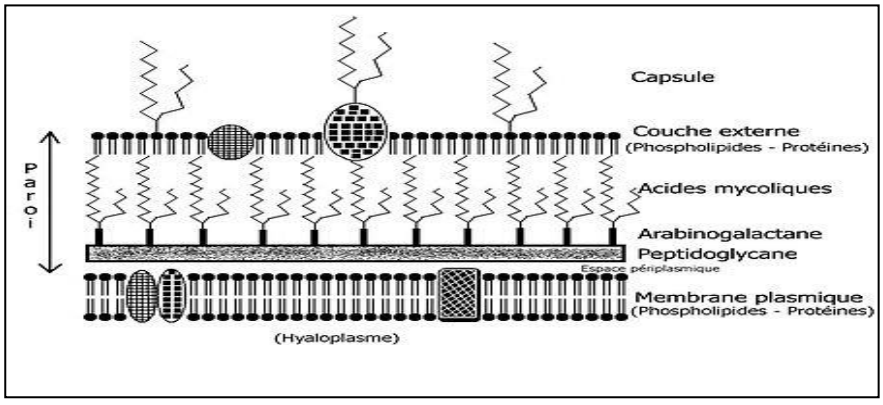


Figure N° 14: L'enveloppe des mycobactéries. [34]

I.4.6. Le rôle de la paroi :

1- Confère **la forme** des bactéries grâce au peptidoglycane plus ou moins présent.

2- Protège la bactérie des **chocs osmotiques** (l'eau ne peut pénétrer de façon massive dans la bactérie ,cela évite qu'elle éclate facilement) et contre les substances toxiques.

- Un filtre, car ne laisse pas passer les grosses molécules, mais laisse passer facilement les petites molécules nécessaires (nutriments).

- **Les porines** transportent certaines molécules à l'intérieur de la bactérie.

3-**Rôle immunogène**, car elle est recouverte d'antigènes (Ag O). [35]

4-La partie **lipopolysaccaridique** de la paroi Gram négatif comprend les molécules d'**entotoxine** (lipide A) qui contribue au pouvoir pathogène bactérien.

5- La paroi est aussi le site d'action de plusieurs **antibiotiques**.

6- Contient les sites de **fixation des bactériophages** ; virus parasite les bactéries.

7- Le principe de **coloration de Gram** et de **ziel** repose sur les différences de composition chimique de la paroi des groupes bactériens concernés.[23]

II.2Les éléments facultatifs

II.2.1.La capsule :

La capsule est une structure extérieure non constante qui entoure la bactérie. [20] Quand elle existe, c'est la plus superficielle. [17] Elle est le plus souvent **polysaccaridique** (c'est-à-dire glucidique) [20] constituée de polysaccarides acides (les sucres sont sous forme d'**acides uroniques** comme l'acide galacturonique, l'acide glucuronique,l'acide hyaluronique mais aussi sous forme de sucres phosphorés comme le ribitol-phosphate) [17], quelquefois polypeptidique. [16]

Sa mise en évidence s'effectue par coloration négative (le colorant, encre de chine ou nigrosine est repoussé par la capsule celle-ci apparait en clair sur fond noir).

La capsule n'est pas fixée solidement à la bactérie et peut se trouver à l'état soluble dans les liquides de l'organisme. [28]

Au laboratoire, les colonies de bactéries encapsulées apparaissent visqueuses et brillantes sur boite de gélose; [35] un aspect muqueux caractéristiques « **les colonies de type M** ». [16]

L'élaboration des substances capsulaires peut être favorisée par le milieu, dans certains cas, elle exige la présence de précurseurs biochimiques. Par mutation, ce pouvoir de synthèse peut être perdu. [16]

La capsule est un **facteur de virulence** car elle protège la bactérie de la phagocytose (les polysaccarides de haut poids moléculaire rendent la bactérie glissante et difficile à phagocyter par les leucocytes). [35], de la déssication et de virus .

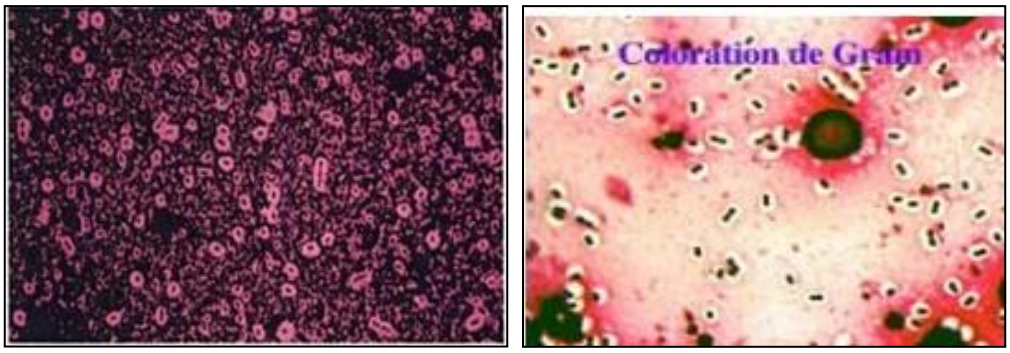
La capsule est une surface d'**adhérence** au substrat ou avec d'autres bactéries. [20]

Elles sont aussi responsables de la spécificité sérologique ; La capsule intervient dans l'identification infra spécifique ou typage qui est une des méthodes de reconnaissance des épidémies.

La capsule enfin est **antigénique** (Ag K), et les antigènes présents à sa surface sont responsable de la réponse immunitaire de l'organisme colonisé par la bactérie.

Exemple des bactéries avec capsule :

- Le pneumocoque (*streptococcus pneumoniae*) responsable de pneumonie, de méningites.
- Le bacille du charbon (*bacillus anthracis*). [20]



-a- **-b-**

Figure N° 15 : La mise en évidence de la capsule par deux types de coloration

a) Ancre de chine b) Coloration de Gram. [17]

II.2.2.Les flagelles :

Ce sont des organites longs de 10 à 20 micromètres (plusieurs fois la taille de la bactérie), très minces moins de 10 à 20 nm d'épaisseur seulement, flexible et sinueuse. Leur constituant principal est une protéine : **la flagelline**. [18]. Ils sont tellement fins qu'ils ne peuvent pas être observés au microscope à fond clair, mais peuvent être colorés par des techniques spéciales qui augmentent leur épaisseur (**Imprégnation argentine**). [30]

Les espèces bactériennes se distinguent souvent par le mode de distribution des flagelles et le type de distribution est utile pour l'identification des bactéries. On distingue cinq types de ciliatures :

A-Ciliature monotriche : (du grec trikhos,cheveu) ont un seul flagelle, s'il est situé à une extrémité on le dit polaire.

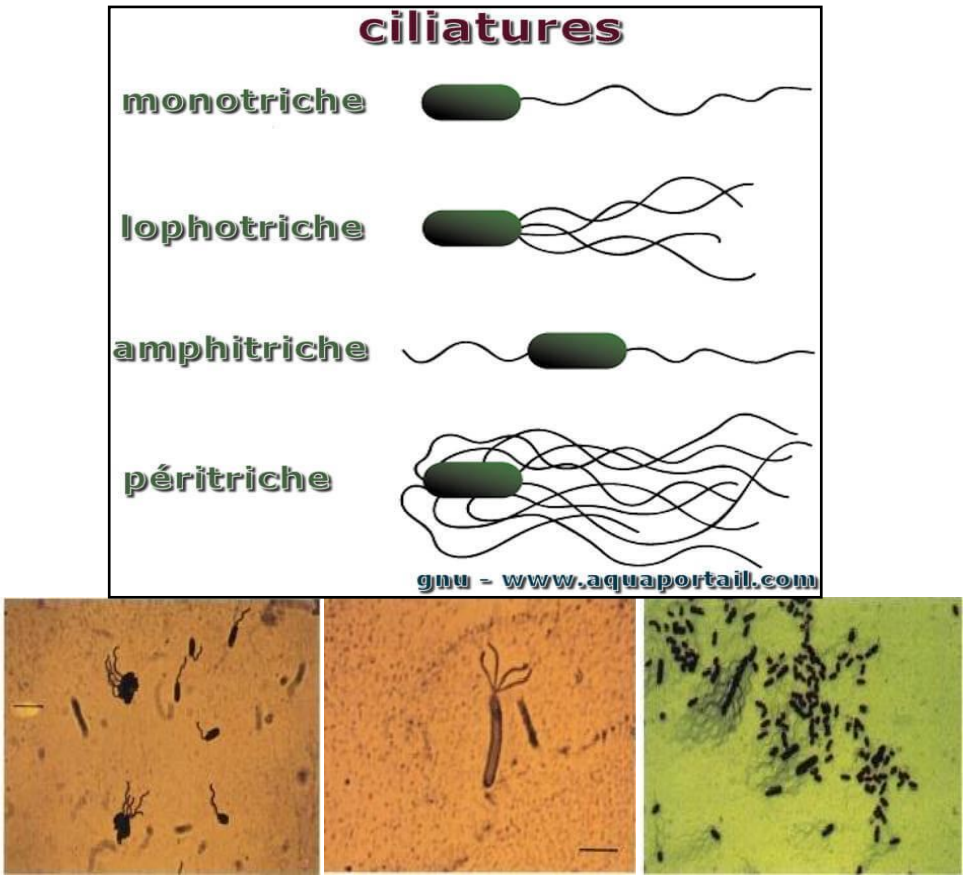
B-Ciliature lophotriche : (du grec lophos,touffe) ont une touffe de flagelles à une ou aux deux extrémités.

C-Ciliature amphitriche : (du grec amphi,des deux cotés) ont un seul flagelle à chaque extrémité.

D-Ciliature pérétriche : (du grec peri,autour) de nombreux flagelles entourent toute la bactérie.

E-Les spirochètes ont un flagelle interne dénommé ***filament axial***.

Les bactéries sans flagelles sont appelées ***atriche.*** [20]



-a- -b- -c-

Figure N°16 : Les différentes ciliatures bactériennes

a- (*pseudomonas*) b (*spirilium*) d (*proteus vulgaris*). [30]

L'ultrastructure d'un flagelle ne s'observe qu'au microscope électronique. [30] qui a permis de montrer que le flagelle bactérien se compose de trois parties :

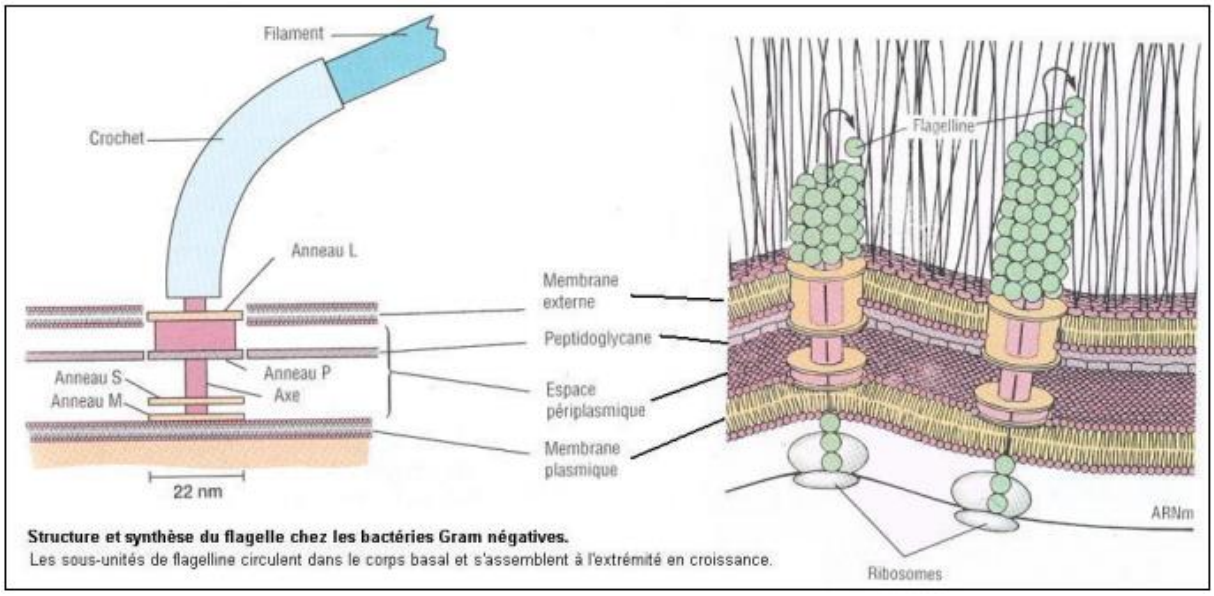
- **Le filament :** est la partie la plus longue et la plus évidente, s'étend depuis la surface

cellulaire. C'est un cylindre creux, rigide, constitué de sous-unités d'une protéine appelée flagelline dont la masse moléculaire varie de 30 000 à 60 000 Da selon l'espèce bactérienne.

Le filament se termine par une protéine de chapeau.

Les flagelles de certaines bactéries sont entourés d'une gaine.(gaine membraneuse chez bdellovibrio,lipopolysaccaridique chez vibrio cholerae)

- **Le crochet :** lie le filament au corps basal et agit comme un accouplement, il est un peu plus large que le filament et fait de différentes sous unités protéiques.
- **un corps basal :** est enfoui dans la cellule, un segment court et courbe. C'est la structure la plus complexe. Chez la plus part des bactéries gram négatif le corps basal a quatre anneaux attachés à un axe central.



Structure et synthèse du flagelle chez les bactéries Gram négatives.
Les sous-unités de flagelline circulent dans le corps basal et s'assemblent à l'extrémité en croissance.

Les flagelles sont les **organes locomoteurs** de la bactérie et le support des **antigènes H**, des bacilles à gram négatif. [18]

II.2.3.Les pilis :

Les pilis sont d'autres structures piliformes présentent sur les cellules de certains procaryotes gram négatif. Ils sont plus courts que les flagelles procaryotes et épais de 7,5 à 10 nm. Les

pilis sont plus importants pour la fixation que pour les déplacements et jouent un rôle dans les échanges d'information génétique. [36]

On distingue deux sortes de pilis : les pilis communs et les pilis sexuels :

II.2.3.1.Les pilis communs :(fimbriae) :

Sont distribués en grand nombre autour de la bactérie (100 à 200 par bactérie). Ils sont ténus, courts (<1 µm), rigides et donc cassants. [37]

Ils possèdent un canal axial très net de nature protéique et sont **antigéniques** et porteurs de propriétés **hémaglutinantes.** Ils jouent un rôle important dans l'**adhésion** des bactéries aux membranes cellulaires et constituent un des éléments du pouvoir invasif des bactéries. (facteur **de virulence**.). [18]

II.2.3.2.Les pili sexuels :

Plus longs (20 micromètres) et souples, terminés par une sorte de bouton, ils sont peu nombreux (1à 4 par bactérie). [18] Les plus connus sont les **pilis F** ; véritables organes sexuels de bactéries males. [18] ils paraissent jouer un certain rôle au cours de **la conjugaison** bactérienne , ainsi que **les échanges des plasmides** qui joueront un rôle primordiale dans l'acquisition de la résistance bactérienne aux antibiotiques. [18]

Les pilis peuvent être facilement séparés par simple agitation.ils sont constitués d'une protéine associant des sous unités d'une masse molaire d'environ 17000 daltons, appelés **pilines**. [38]

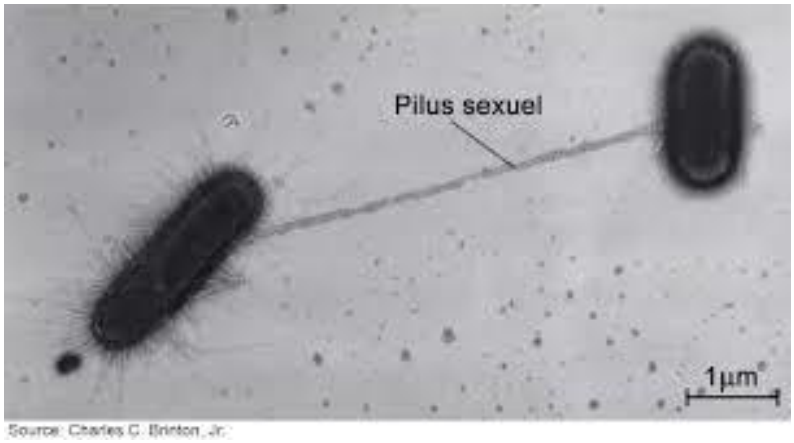


Figure N°17 : Les fimbriaes sous microscope électronique. [30]

II.2.4.Les plasmides :

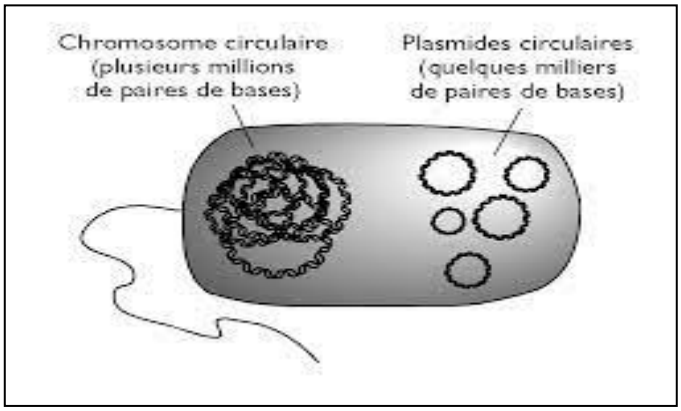
Ils se définissent comme des molécules d'ADN circulaires généralement (des plasmides linéaires sont présents chez les borrelia sp,et les streptomyces), super-enroulée, extrachromosomique, doué de réplication plus au moins autonome, situées dans le cytoplasme des bactéries. [25]

Ces génomes sont extrêmement fréquents dans le monde bactérien. Ils ne sont dans les conditions naturelles pas indispensables à la vie de la bactérie.[28],mais qui donnent souvent un avantage sélectif à celle-ci. Leur taille est environs 100 fois plus petite que celle de l'ADN chromosomique (1 à 400 kilo bases). [25]

Contrairement au chromosome bactérien, ils sont extrêmement mobiles et peuvent passer facilement d'une bactérie à l'autre, et même d'une espèce bactérienne à l'autre ; une fois dans la cellule bactérienne hôte, ils peuvent s'intégrer au chromosome bactérien. [14]

Fonctionnellement, les gènes portés par les plasmides sont extrêmement divers :gènes structuraux (fimbriae), gènes métaboliques et cataboliques (métabolisme des sucres ,catabolisme de molécules organiques), [39]. Ils codent également pour l'élaboration des toxines chez les entérobactéries. [14]

Souvent ils contiennent les données génétiques de résistance aux antibiotiques, ou aux agents physiques ou chimiques .Certains plasmides de taille supérieure contiennent également l'information nécessaire à la formation des enzymes de transfert lors de la conjugaison. Ainsi les bactéries sont en mesure de transmettre une résistance d'origine plasmidique par conjugaison. [24]



II.2.7.La spore :

La spore, corps sphérique ou ovoïde très dense, est une structure de résistance, produite par les bactéries pour résister à des conditions de vie défavorables (manque de

nutriments, température trop élevée,..). [39] et une forme de survie qui peut vivre des années sans échange avec le milieu extérieur. [14]

La bactérie développe une forme de résistance particulière en entrant dans une phase d'hibernation appelée repos cellulaire. Elle ne se nourrit plus et stoppe toute activité, elle ne se reproduit donc pas. [14] Leur habitant naturel est le sol. [39]

Sur la bactérie vivante la spore apparait comme un espace claire, réfringent, ovoïde, limité par un contour régulier. Elle peut déformer ou non le corps microbien. [37] Dans les bactéries colorés au bleu de méthylène ou avec d'autres colorants, elles apparaissent souvent comme des zones incolores ; des colorants spéciaux sont utilisés pour les rendre visibles. [16] La position de la spore dans la cellule mère ou sporange diffère fréquemment selon les espèces. [16], elle est recherchée dans un but taxonomique (centrale chez certaines bacillus ;subterminale chez les clostridium et terminale chez les plectridium). [37]

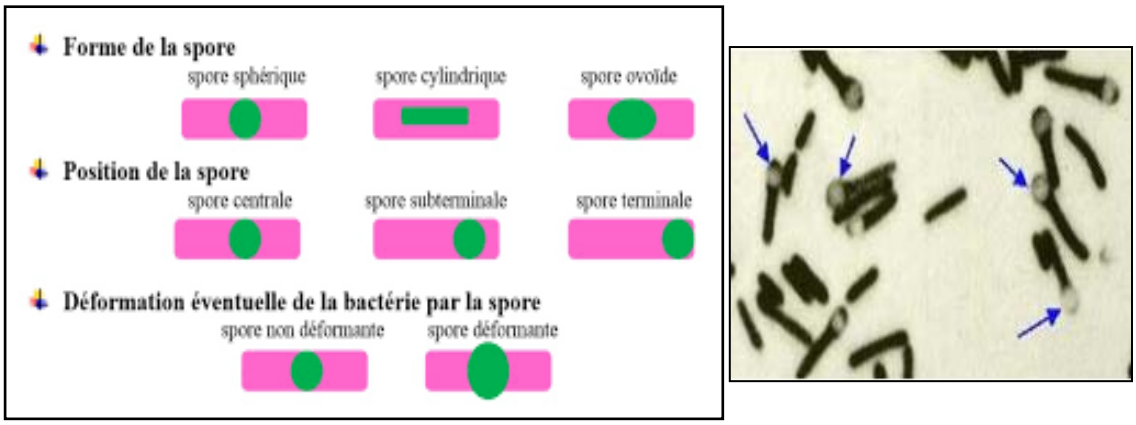


Figure N°18 : La spore bactérienne. [14]

Trois grandes catégories de bactéries : **les bacillus , les clostridiums, les sporosarcina** [37] ont la propriété de se différencier en formes de survie appelées spores.Ces bactéries se présente donc soit sous une forme végétative métaboliquement active et potentiellement pathogène, soit sous une forme métaboliquement inactive et non pathogène.

La transformation de la forme végétative en spore est ***la sporulation***, elle prend 6 à 8 heures à 37°c pour *bacillus subtilis*, tendis que ***la germination*** est la transformation de la spore en bactérie active [39] ,elle dure de 40 à 60 minutes. [14]

La sporulation est caractérisée par une déshydratation progressive du cytoplasme par l'apparition de nouveaux composés comme le dipicolinate de calcium ,par une densification des structures nucléaires et par la synthèse d'une paroi sporale épaisse et imperméable.

Les spores sont très résistantes à la température (plusieurs heures à 100 °c),aux rayonnements ,aux agents chimiques (antiseptiques ,désinfectants) et au temps (survie atteignant plusieurs siècles).métaboliquement inactives ,les spores résistent naturellement aux antibiotiques.

La spore résiste à la pasteurisation (température supérieure à 65°c) et il faut 10 minutes d'autoclave à 120°c pour la détruire .elle résiste également au froid (jusqu'à – 70°c) elle n'est donc pas détruite par la surgélation ni la congélation.

La spore est souvent entourée d'une enveloppe mince et délicate appelée exosporium. qui es une membrane lipoproteinique contenent 20% de sucres ,il n'est pas essentiel à la survie de la spore. [16]

La tunique située sous l'exosporium, représente 20 à 35% de l'ensemble : elles sont composées d'une protéine de type kératine riche en liaisons disulfures :imperméables ,elles sont responsables de la résistance aux agents chimiques. [16]

Le cortex qui peut occuper plus de la moitié du volume de la spore (10 à 20% de l'ensemble),est localisé sous la tunique. [19] C'est une couche épaisse d'aspect monomorphe très transparente aux éléctrons :il est formé d'un peptidoglycane inhabituel avec beaucoup moins de liaisons internes et est très sensible au lysozyme :il contient une forte proportion de dipicolinate de calcium,son autolyse constitue une étape déterminante de la germination**.** [16]

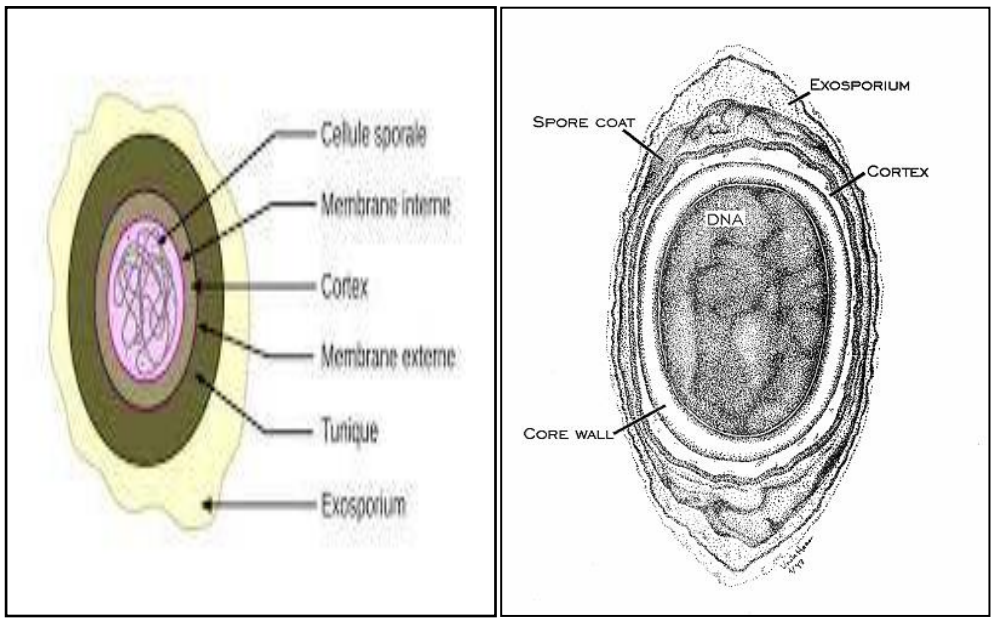


Figure 19: La structure de la spore bactérienne

Chapitre 03 : Physiologie et croissance bactérienne

Objectifs :

1- Les conditions de la croissance bactérienne
- Nutritionnelles
- Environnementales

2- La croissance bactérienne proprement dite :
- La division bactérienne proprement dite
- Dynamique de la croissance

Définitions :

- **La physiologie :** Science des fonctions et des constantes du fonctionnement normal des organismes vivants, unicellulaires comme pluricellulaires.
- **La croissance :** La croissance se définit généralement comme le développement ordonné des composants d'un organisme, ce qui se traduit, par exemple, par un accroissement de taille et de volume. La croissance bactérienne s'apparente plutôt à celle de la population, laquelle se traduit par une augmentation du nombre d'individus dans la colonie. L'accroissement est donc synonyme de multiplication cellulaire.

I. Métabolisme bactérien

Le métabolisme bactérien est l'ensemble des réactions cataboliques, consistant à dégrader les éléments nutritifs du milieu, à transférer et à stocker l'énergie résultant de ces dégradations, afin de réaliser les réactions anaboliques permettant aux bactéries de réaliser la synthèse de ses propres constituants.

I.1. Nutrition

La nutrition consiste dans l'assimilation par la bactérie des divers éléments chimiques offerts par le milieu. Comme tous les organismes vivants, la bactérie a besoin de carbone, d'hydrogène, d'azote, de soufre et de phosphore ainsi qu'en moindres quantités de nombreux autres éléments : HPO_4^{--}, Cl^-, SO_4^{--}, K^+, Na^+, Ca^{++}, Mg^{++}, Fe^{++}, Mn^{++}, Co^{++}.

La capacité d'une bactérie à utiliser un nutriment déterminé comme source d'un élément dépend de :

a) l'existence d'un système enzymatique adéquat de dégradation ;

b) l'existence de processus d'entrée du nutriment (perméases). (1)

L'utilisation de ces nutriments par le **métabolisme cellulaire** bactérien permet :

- au niveau **anabolique** la biosynthèse de constituants bactériens structuraux (membrane, paroi,....) et fonctionnels (enzymes, coenzymes, ...) ;

- au niveau **catabolique** la production d'énergie chimique (Adénosine TriPhosphate ou ATP) et de métabolites intermédiaires ; ces deux types de composés chimiques étant à leur tour utilisables au niveau anabolique, ce qui démontre bien l'interdépendance très étroite existant entre ces différentes voies métaboliques. (2)

I.1.1. Besoins nutritionnels des bactéries :

I.1.1. 1. Besoins énergétiques :

Chez les procaryotes, l'énergie utilisée peut être de l'énergie lumineuse (photons) ou de l'énergie chimique (énergie contenue dans les liaisons covalentes entre atomes).

- **La phototrophie :**

Les bactéries phototrophes peuvent capter et utiliser l'énergie lumineuse au niveau de complexes multimoléculaires, appelés photosystèmes. Un photosystème est composé d'une "antenne collectrice", qui transmet l'énergie lumineuse à une bactériochlorophylle (capable d'expulser un électron après absorption d'un photon) et d'un "centre réactionnel" (ATP synthétase) permettant la formation d'ATP. [3]

- Si le donneur d'électrons est minéral, la bactérie est dite **photolithotrophe** H_2S pour *Chlorobium* (bactérie verte) et *Thiosarcina* (bactérie pourpre).
- Si le donneur d'électrons est organique (formate, acétate, éthanol, arginine, ..) la bactérie est dite **photoorganotrophe** (ex : *Rhodospirillum*).

- **La chimiotrophie :**

Les bactéries **chimiotrophes** utilisent **l'énergie chimique** (énergie "contenue" dans les liaisons entre atomes) libérées lors de **réactions d'oxydations de substrats réduits** (RH_2) que l'on appelle substrats énergétiques ou sources d'énergie.

Comme pour les bactéries phototrophes, on distingue au sein des bactéries chimiotrophes les :

- **Chimio-lithotrophes** : utilisant un composé inorganique comme donneur d'électrons (ex. le couple Fe^{2+} / Fe^{3+} pour *Thiobacter ferroxydans*)

- **Chimio-organotrophes** ayant pour donneurs d'électrons des composés organiques réduits (que l'on peut symboliser par RH_2). Les bactéries d'intérêt médical sont presque toutes chimioorganotrophes.

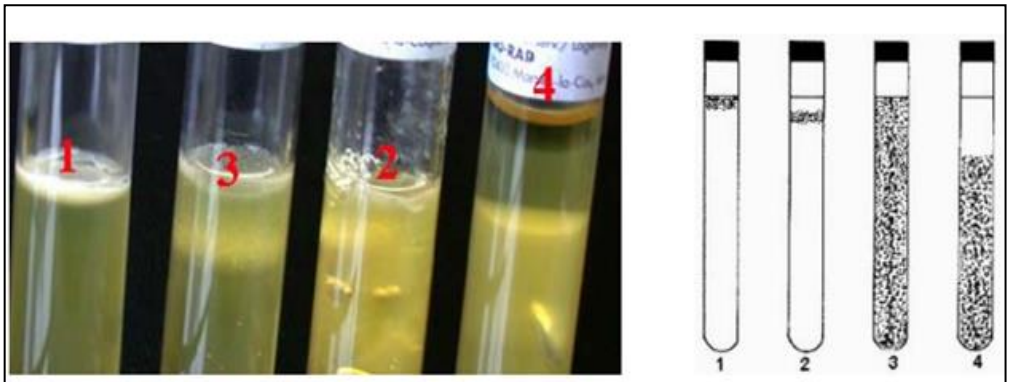
I.1.1.2. Source d'Oxygène (O_2) :

La **phosphorylation oxydative** est le processus permettant la synthèse d'ATP à partir de l'énergie libérée lors du transfert des électrons, des transporteurs membranaires aux potentiels d'oxydo-réduction les plus négatifs vers ceux dont le potentiel est plus positif.

Quand l'accepteur final d'électron est le dioxygène (O_2) on parle de **respiration aérobie**.

- **Les bactéries aérobies strictes** ne peuvent ré-oxyder le NADH + H^+ que par une chaîne respiratoire (ou chaîne de transporteurs) ayant pour accepteur final d'électrons le dioxygène. Ces bactéries poussent en surface de la gélose Viande Foie (VF).
- **Les aéro-anaérobies facultatives** peuvent en l'absence de dioxygène a utiliser une voie énergétique fermentative pour produire de l'ATP (ex : *Escherichia coli* qui cultive sur toute la hauteur de la gélose VF).

- **Les microaérophiles** ne peuvent vivre que sous une faible pression en O_2 (ex. : *Campylobacter*).
- **Les bactéries anaérobies strictes** : quand l'accepteur final d'électron n'est pas le dioxygène (ex : *Clostridium*). (4)



Types respiratoires des bactéries
(1: aérobie strict; 2: microaérophile; 3: aéro-anaérobie; 4: anaérobie strict)

I.1.1.3. Source de carbone :

Les bactéries **AUTOTROPHES** tirent leur carbone du CO_2 et d'ions carbonates. Certaines bactéries sont des AUTOTROPHES obligés.

Les bactéries pathogènes sont, quant à elles, **HETEROTROPHES** pour le carbone. Elles utilisent des composés organiques comme sources de carbone et d'énergie. Les sources de carbone des hétérotrophes sont, dans l'ordre, des sucres simples, des disaccharides, des alcools polyvalents, des acides organiques aliphatiques.

I.1.1.4. Sources d'azote :

L'azote est assimilé, par les bactéries, sous forme ammoniacale. Cet ammoniac sera inséré sur le squelette carboné des acides organiques correspondants pour synthétiser l'ensemble des acides aminés.

Les bactéries autotrophes, ainsi que nombre de bactéries hétérotrophes pour l'énergie et le carbone, se contentent d'une source inorganique d'azote : N_2 pour *Rhizobium*, *Azotobacter*, *Clostridium* des sols … ; nitrates et nitrites ; sels inorganiques d'azote (phosphates, carbonates, sulfates). D'autres bactéries peuvent ou doivent utiliser une source organique d'azote, ou plus précisément de NH_3 (les bactéries Gram+ sont plus exigeantes que les Gram-). [5]

I.1.2. Les facteurs de croissance :

Les facteurs de croissance peuvent appartenir essentiellement à trois grandes catégories de métabolites essentiels :

- Les acides aminés indispensables à la synthèse des peptides et protéines.
- Les bases puriques et pyrimidiques indispensables à la synthèse des acides nucléiques.
- Les vitamines jouant des rôles de coenzymes.

Un **métabolite essentiel** est une substance organique indispensable à la vie et la multiplication d'une bactérie. Ce métabolite entre dans la catégorie des composés fonctionnels assurant le déroulement et le maintien des activités cellulaires vitales ; Il n'est pas utilisé (catabolisé) comme source d'énergie.

Un **facteur de croissance** est un métabolite essentiel que la bactérie ne sait pas synthétiser et qui doit être apportés par le milieu de culture.

I.1.2.1. Les conditions physico-chimique de la croissance :

- Température :

Les bactéries peuvent être classées selon leur température optimale de croissance.

- **Bactéries mésophiles** (Ex. : *Escherichia coli*) : température de croissance proche de celle du corps humain (37°C)
- **Bactéries thermophiles** (Ex. : *Thermus aquaticus*) : températures de croissance comprises entre 45°C et 70°C .
- **Bactéries hyperthermophiles** (Ex. : *Archaea*) : températures de croissance supérieures à 80°C .
- **Bactéries psychrophiles** (Ex.: Moraxella) : Températures proches de 0°C (optimum à 10-15°C).

- **Bactéries psychrotrophes** (Ex. : *Pseudomonas*) : températures de croissance proches de 0°C avec optimum de croissance proche des bactéries mésophiles.

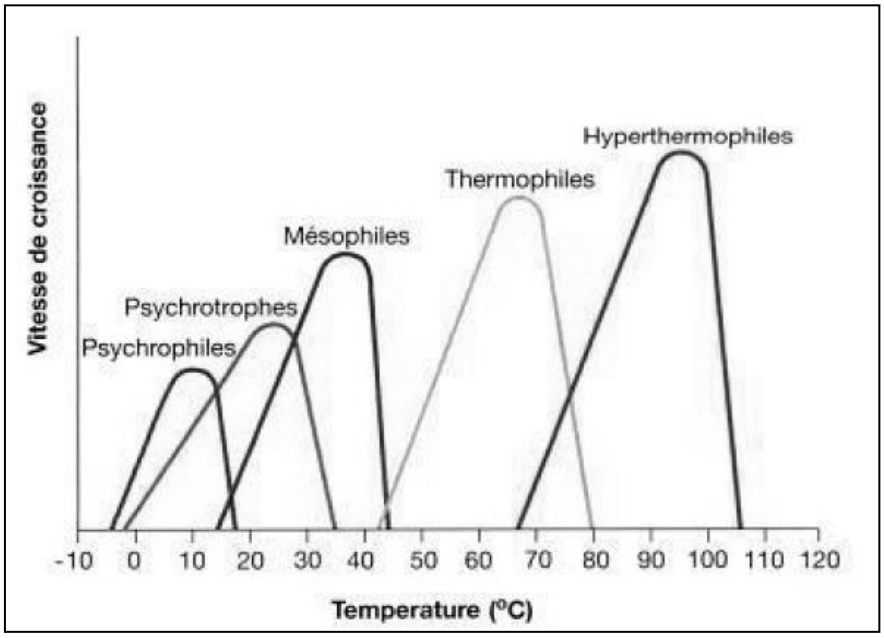


Figure 1 : Les gammes de température pour la croissance microbienne

- **Effet du pH :**

Le pH (concentration en ion hydrogène [H+]) de l'environnement varie entre 0,5 (sols acides) et 10,5 (eaux alcalines des lacs). Les bactéries pathogènes ou liées à l'écosystème humain se développent le plus souvent dans des milieux neutres ou légèrement alcalins.
On distingue les bactéries:
- **Neutrophiles** : se développent pour des pH sont compris entre 5,5 et 8,5 avec un optimum voisin de 7. La plupart des bactéries médicalement importantes sont ainsi. - alcalophiles qui préfèrent les pH alcalins: cas de *Pseudomona*s et *Vibrio*.
- **Acidophiles :** se multiplient mieux dans des milieux acides : cas des *Lactobacillus*.

- **Effet de l'eau libre**

La disponibilité de l'eau présente dans l'atmosphère ou dans une substance intervient dans la croissance bactérienne. L'activité de l'eau (Aw) est inversement proportionnelle à la

pression osmotique d'un composé. Ainsi, elle est affectée par la présence plus ou moins importante de sels ou de sucres dissous dans l'eau. [8]

- Présence de sels :

Les bactéries halophiles nécessitent du sel (NaCl) pour leur croissance. Cette concentration peut varier de 1-6% pour les faiblement halophiles jusque 15-30% pour les bactéries halophiles extrêmes (*Halobacterium*). [8]

Les bactéries halotolérantes acceptent des concentrations modérées de sels mais non obligatoires pour leur croissance (Ex. : *Staphylococcus aureus*). [8]

- Présence de sucres :

Les bactéries osmophiles : nécessitent des sucres pour leur croissance. Celles osmotolérantes acceptent des concentrations modérées de sucres mais non obligatoires pour leur croissance.

Enfin les bactéries xérophiles peuvent se multiplier en l'absence d'eau dans leur environnement. [8]

- **Effet de la pression osmotique :**

Les bactéries sont assez tolérantes aux variations des concentrations ioniques. Certaines espèces sont osmotolérantes (staphylocoques, *Vibrio cholerae*).

I.3. La croissance bactérienne :

La croissance bactérienne est l'accroissement ordonné de tous les composants de la bactérie qui aboutit à l'augmentation du nombre de bactéries. La croissance et les métabolismes des bactéries sont propres à chaque genre bactérien, permettant ainsi de les différencier.

Au cours de la croissance qui peut être étudiée en milieu liquide ou solide, il se produit, d'une part, un appauvrissement du milieu de culture en nutriments et d'autre part, un enrichissement en sous- produits du métabolisme, éventuellement toxiques. [9]

I.3.1. Le cycle cellulaire :

Le cycle cellulaire est la conséquence complète des évènements depuis la formation d'une nouvelle cellule jusqu'à la division suivante. La plupart des procaryotes se reproduisent par scissiparité, bien que certains procaryotes puissent se reproduire par bourgeonnement, par fragmentation et par d'autres moyens. La scissiparité est un type relativement simple de division cellulaire : la cellule s'allonge, réplique son chromosome et sépare les molécules d'ADN nouvellement formées de manière à ce qu'il y ait un chromosome dans chaque moitié de la cellule. Finalement, un septum se forme au milieu de la cellule en divisant la cellule parentale en deux cellules filles contenant chacune son chromosome et une partie des autres constituants cellulaires. (11)

I.3.2. La courbe de croissance :

La croissance d'une bactérie s'étudie en milieu liquide en 5 phases qui dons l'ensemble constituent la courbe de croissance, comme le montre la figure suivante :

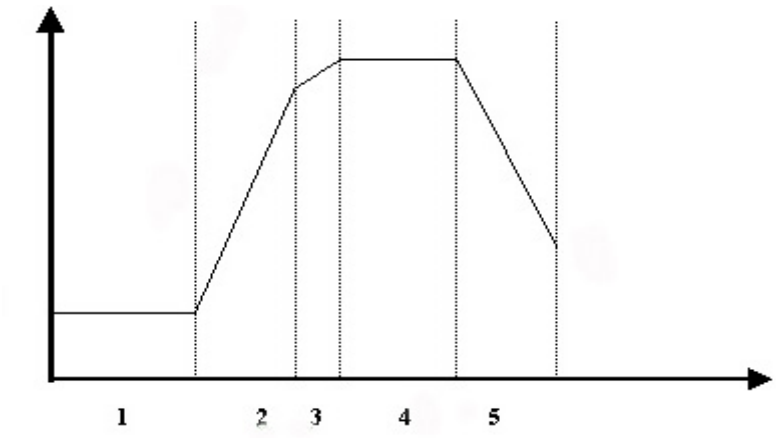


Figure 2 : Courbe de croissance bactérienne

1-Phase de latence : C'est le temps nécessaire à la bactérie pour synthétiser les enzymes adaptées au nouveau substrat ou le taux de croissance nul (u = 0) et la durée de cette phase dépend de l'âge des bactéries et de la composition du milieu.

2-Phase de Croissance exponentielle : C'est Le temps de doublement des bactéries est le plus court la masse cellulaire est représentée par des cellules viables (mortalité nulle) et le taux de croissance atteint un maximum (u = max), cette phase dure tant que la vitesse de croissance est constante.

3-Phase de ralentissement : la vitesse de croissance régresse. Il y a un épuisement du milieu de culture et une accumulation des déchets. Il existe un début d'autolyse des bactéries.

4-Phase stationnaire : le taux de croissance devient nul (u = 0). Les bactéries qui se multiplient compensent celles qui meurent.

5-Phase de déclin : le taux de croissance est négatif (u<0). Toutes les ressources nutritives sont épuisées. Il y a accumulation de métabolites toxiques. Il se produit une diminution d'organismes viables et une lyse cellulaire sous l'action des enzymes protéolytiques endogènes.

I.3.3. Etude de la croissance :

I.3.3. 1. Le temps de génération :

Appelé aussi le temps de doublement, c'est le temps nécessaire pour qu'une bactérie donne deux cellules filles**.**Le temps de génération varie selon les espèces de micro-organismes aussi bien que selon les conditions de l'environnement. Il varie de 10 minutes pour quelques bactéries à plusieurs jours pour certains micro-organismes eucaryotes. Le temps de génération est souvent beaucoup plus long dans la nature qu'en milieu de culture. (7)

Bactérie	*In vitro* (min)	*In vivo* (h)
Escherichia coli	20-40	5
Staphylococcus aureus	40	3-5
Pseudomonas aeruginosa	40	4
Mycobacterium tuberculosis	120-240	24-48

Tableau 23 : Temps de génération de quelques espèces bactériennes.

I.3.3. 2. Techniques de mesure de la croissance bactérienne : (3)

Chez les micro-organismes, la croissance se traduit par une augmentation du nombre d'individus. Cette augmentation du nombre provient de la division d'une cellule en deux nouvelles cellules.

- Comptage du nombre de cellules

Cette opération se fait manuellement à l'aide d'un microscope (chambre de comptage de Petroff-Hausser) ou à l'aide des compteurs électroniques (si les cellules sont suffisamment grandes (taille des protozoaires, algues, globules rouges ect. ,,,) tels que les compteurs de Coulter.

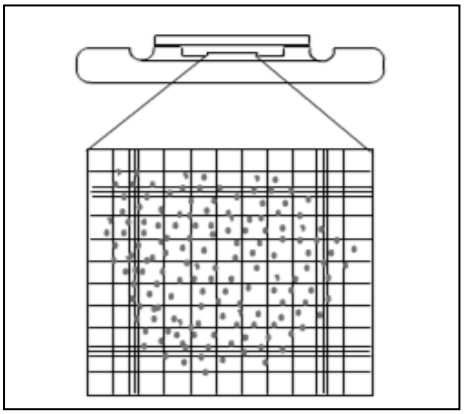


Figure 3 : Cellule de Petroff-Hausser

- **Le dénombrement des colonies après culture et dilution en série :**

Le principe de cette méthode consiste à diluer successivement l'inoculum initial dans des éprouvettes. Chaque éprouvette contient seulement un dixième du nombre de bactéries présentes dans l'éprouvette précédente. On ensemence un volume connu (1 ml) à la surface de gélose et on incube. Le nombre de colonies devient dénombrable à des fortes dilutions.

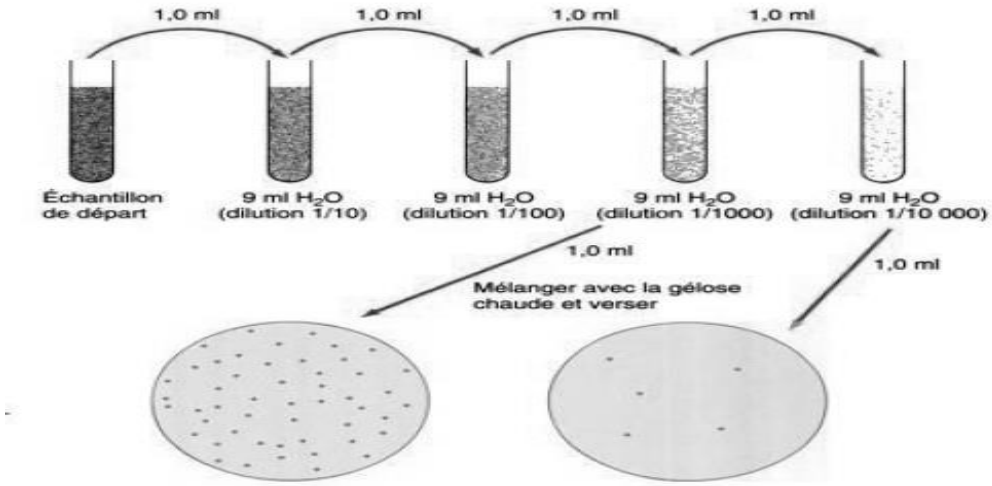


Figure 4 : Dénombrement après culture et dilution en série.

- Mesure de la biomasse par :

1. Détermination du poids sec : on prélève un certain volume de suspension bactérienne et on laisse sécher à 110°C pendant 12h puis on pèse l'échantillon sec.

2. Opacimétrie : on mesure la turbidité de la suspension bactérienne à l'aide d'un turbidimètre ou colorimètre (à longueur d'onde > 650 nm)

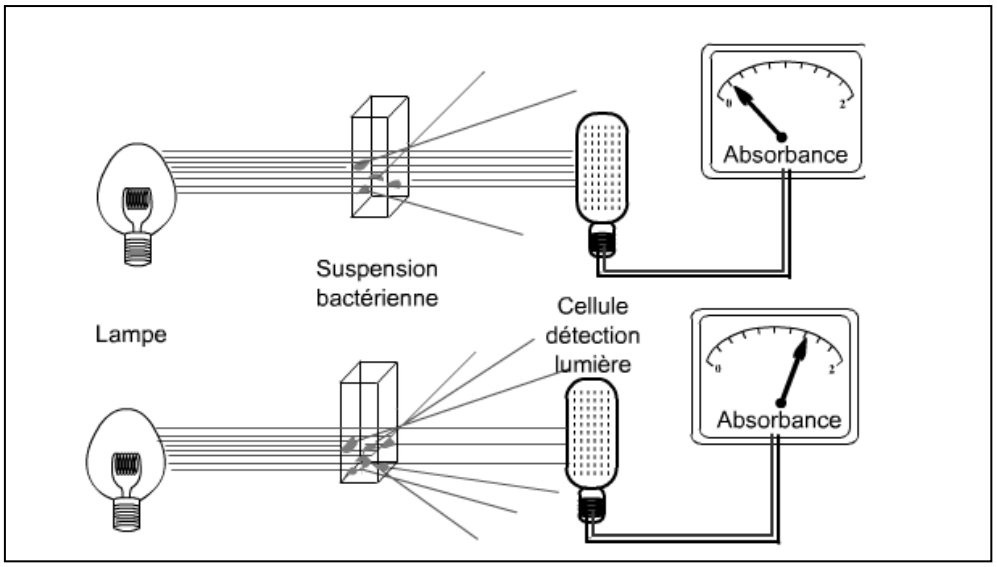


Figure 5 : Principe de la mesure par turbidimétrie

I.3.3. 3. Cas particuliers de la croissance :

- **La diauxie :**

Dans certaines conditions, on peut observer des courbes de croissance plus complexes, avec souvent deux phases de croissance exponentielle séparées par une phase de latence. Cette croissance biphasique ou "*diauxie*", ou *croissance double*, est observée avec certaines bactéries poussant dans un milieu limitant en deux sucres ou en un sucre et un acide organique. La première phase de croissance correspond à l'utilisation exclusive d'un des composés, elle est suivie d'une période d'adaptation et d'une deuxième phase de croissance où le deuxième composé est métabolisé. La figure est une courbe de diauxie typique où les deux substrats sont le glucose et l'acide citrique.

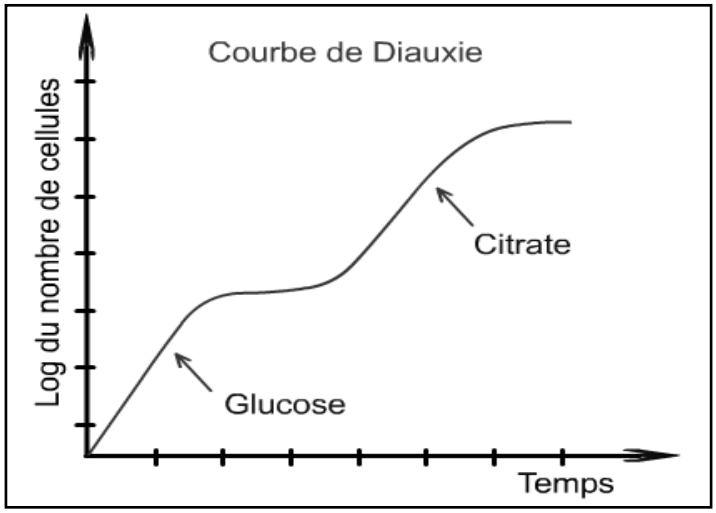


Figure 6 : Croissance en diauxie

- **Croissance en culture synchrone :** (7)

Les bactéries se multiplient toutes au même moment. La courbe de croissance montre des paliers successifs. Ce type de culture permet d'étudier la division cellulaire indépendamment de la croissance.

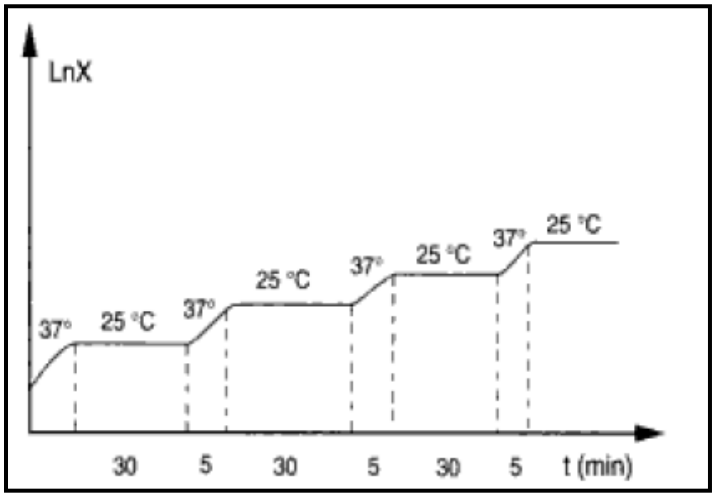


Figure 7 : Croissance synchrone obtenue par choc thermique

- **Croissance en culture continue :** (11)

Il y a maintien d'une croissance exponentielle continue lorsque le milieu de culture est renouvelé régulièrement et que les métabolites sont éliminés en même temps. La valeur µ est

maximale et constante. Deux types principaux de culture continue sont généralement utilisés le chémostat et le turbidostat.

- **Croissance en Biofilm :** (12)

La notion de biofilm est liée à une forme de vie communautaire et sédentaire dans laquelle des espèces unicellulaire (bactéries, champignons ou levures) s'associent pour former une structure complexe ayant une hétérogénéité fonctionnelle et spatiale.

Les biofilms bactériens jouent un rôle important dans certains contextes infectieux, notamment en relation avec la pose de dispositif implantable (tubes endotrachéaux, prothèses, cathéters, sondes urinaires…).

Ils sont également suspectés de former des réservoirs microbiens dans les réseaux d'eau à l'hôpital et d'engendrer des infections nosocomiales. Résistants à de nombreux agents anti-infectieux (antibiotiques et antiseptiques) et aux défenses immunitaires, les biofilms peuvent survivre dans des environnements hostiles.

I.4. Réponses aux stress : (13)

Face aux stress, les bactéries peuvent répondre selon différentes stratégies :

- Fuir le stress (bactéries possédant un ou des flagelles) ;
- Produire des facteurs de virulence tels que des toxines (cas des bactéries pathogènes lors de l'attaque invasive) ;
- Former des spores de résistances (*Clostridium* sp., *Bacillus* sp.) ;
- Se développer sous la forme de biofilm ;
- Eliminer le stress (dégradation des molécules toxiques tels que les antibiotiques) ;
- Tolérer le ou les stress : réparation des dommages intracellulaire et adaptation physiologique et moléculaire.

I.4.1. Réponses aux stress : La réponse adaptative

Les micro-organismes présentent des capacités d'adaptation remarquables à certains stress physico-chimiques rencontrés dans leur environnement. Le déclenchement de mécanismes cellulaires complexes génère une réponse adaptative de la bactérie qui aboutit à un état de tolérance et par conséquent à une survie dans des conditions qui sont normalement létales.

Références bibliographiques :

1- **A. Meyer, J. Deiana, A. Bernard,** cours de microbiologie générale avec problèmes et exercices corrigés, 2e édition.

2- **Prescott-Harley-Klein,** Microbiologie, 2eme édition française

3- **Jeffrey C. Pommerville,** Alamo's fundamentals of microbiology.

4- Introduction à la microbiologie, (chapitre 10, page 301-325).

5- Géraldine PINA Delphine RAYNAUD1, critères de choix d'une méthode d'identification, DES Bactériologie-Virologie 2003

6- **Stackebrandt, E., Frederiksen, W., Garrity, G. M., Grimont, P. A. D., Kämpfer, P., Maiden, M. C. J., Nesme, X., Rosselló-Mora, R., Swings, J., Trüper, H. G., Vauterin, L., Ward, A. C. & Whitman, W. B. (2002)** Report of the ad hoc committee for the reevaluation of the species definition in bacteriology. *Int J Syst Evol Microbiol* **52**, 1043-1047.

7- **Rosselló-Mora, R. & Amann, R. (2001).** The species concept for prokaryotes. *FEMS Microbiol Rev* **25**, 39-67.

8- **Grimont, P. A. D. (1981).** Use of DNA reassociation in bacterial classification. *Can J Microbiol* **34**, 541-546.

9- **Devereux, R., He, S.-H., Doyle, C. L., Orkland, S., Stahl, D. A., LeGall, J. & Whitman,W. B. (1990)**Diversity and origin of *Desulfovibrio* species: phylogenetic definition of a family. *J Bacterial* **172**, 3609-3619.

10- **Dijkshoorn, L., Ursing, B. M. & Ursing, J. B. (2000).** Strain, clone and species: comments on three basic concepts of bacteriology. *J Med Microbiol* **49**, 397-401.

11- **Dennis, P. P., Ziesche, S. & Mylvaganam, S. (1998).** Transcription Analysis of Two Disparate rRNA Operons in the Halophilic Archaeon *Haloarcula marismortui*. *JBacteriol***180**, 4804-4813.

12- **Géraldine PINA Delphine RAYNAUD**, Critères de choix d'une méthode D'identification, DES Bactériologie-Virologie 2003.

13-**Hamilton .P ;Evert.R.F ;Eichhonn.S.E ;2000 :**Biologie végétale.p.284**.**

14 -**Baudry.C et Huguette.B ;2006** :microbiologie et immunologie,p.17.18.

15 -**Daniel .R ;Brigitte.V ;2004** :éléments de biologie cellulaire.p.13-51

16 -Meyer.A,Decana.J et Bernard.A ;2004 :Cours de microbiologie générale avec problèmes et exercices corrigés,p.30.54.16.167-168

17 -kurt A.Bienz ; 2005 :médical microbiology.p.152.(figure 4 de l bact)

18-Jean-Paul-Larpent-Gourgaud ;1997 :Mémento techniques de microbiologie ,3ème édit,p ?

19-Prescott.L.M,Harley.J.P,Klain D.A ;2003 :Microbiologie,p :40-48,54-56,297.

20-Anonyme 03: http://fr.wikipedia.org/wiki/Microbiologie

21-Anonyme01 : http://fr.wikipedia.org/wiki/Bacille_(forme)

22-Lansing .M.P,Harley.J.P,Donald A.K ;2003 :Biologie –version luxe.p.551.

23-Leryal.G,Vierling.E ;2007 :Microbiologie et toxicologie des aliments :hygiène et sécurité ,p.29.30.33.34.

24 -Couvez.P. ;2005 :transformation carnée à la ferme.P.164.

25-Pebret.F ;2003.Maladies infectieuses :toutes les pathologies des programmes,p.66.

26-Hart.T et Shears.p ;1997 :Atlas de poche de microbiologie ,1ère édi :p.01.

27-Jeffrey c.pommerville :Alcamo's fundamentals of microbiology.p108-113-120-124

28-Denis .F ;Bingen.E et Martin.C;2011:Bactériologie médicale,techniques usuels,2ème édit.p.16.17.18.21.

29-Robert.p,thierry .A ; zonszain.F ; 1997: experiences faciles et moins faciles en sciencs biologiques.p 175)

30-Sherwood .L.M ;Willey.J.M ;Woolverton.C.J ;2010:Microbiologie.p.49-55.58.68.

31-Bresmick.S.D ;Marie.C ;Bouharmont.J ;2004 :Biologie .p.66.

32-Voet.D ;2005 :biochimie.p.3.

33-Schaechter.M,Ledoff.G,Eisenstein.B.I ;1999 :Microbiologie et pathologies infectieuses,p.46.32.

34-Anonyme02 : http://fr.wikipedia.org/wiki/Mycobacteriaceae

35-Marie-Madeleine- ;2007 :Alimentation ,sécuritéet controles microbiologiques .p.183.

36 -Jawtz.E ;Melnick.J.L ;Edward.A ;1973 :Microbiologie médicale.p.45.18

37-Corthier.G ;2011 :Bonnes bactériens et bonne santé.p.37.

38-Gouban.P. et Pellegrims.E ;2000 :Représ en microbiologie édition 2000.p.19.

39-Branger.A, richer.M, roustel.S, ;2007 : microbiochimie et alimentation.p 120.